



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**INFECÇÕES FÚNGICAS INVASIVAS NAS UNIDADES DE CUIDADOS
INTENSIVOS**

Trabalho submetido por
Liliana Sofia Guia Alves
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Outubro de 2014



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

INFEÇÕES FÚNGICAS INVASIVAS NAS UNIDADES DE CUIDADOS INTENSIVOS

Trabalho submetido por
Liliana Sofia Guia Alves
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Mestre Teresa Nascimento

Outubro de 2014

Resumo

As Infecções Fúngicas Invasivas (IFI) são um problema crescente sobretudo nos doentes internados nas Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) e estão associadas a elevados índices de mortalidade. São vários os fatores de risco relacionados com os cuidados prestados nas UCI, destacando-se a nutrição parental total, a ventilação mecânica, a cirurgia, entre outros. Os agentes etiológicos mais comumente envolvidos neste tipo de infecções são as espécies *Candida*, sobretudo a espécie *C. albicans*. Contudo, nos últimos anos tem-se verificado um aumento do número de IFI por espécies não-*albicans*, por fungos filamentosos do género *Aspergillus* e *Mucorales*. O diagnóstico padrão continua a ser realizado com base em metodologias tradicionais, apesar das inúmeras desvantagens que apresentam. Novos métodos não invasivos e mais precisos desenvolvidos recentemente consistem essencialmente na determinação de constituintes da parede celular, em técnicas moleculares, em ensaios imunocromatográficos e em espectrometria de massa. O arsenal antifúngico disponível atualmente resume-se a três classes de fármacos, os polienos, os triazóis e as equinocandinas, no entanto novas moléculas promissoras têm sido desenvolvidas. Outras estratégias de tratamento estudadas passam pela combinação de tratamentos, pelo tratamento profilático, preventivo ou empírico. A imunoterapia com recurso a citocinas pró-inflamatórias e fatores de estimulação de colónias, bem como o desenvolvimento de vacinas experimentais também têm sido objeto de investigação. A implementação de medidas preventivas desempenha um papel de grande relevância, na medida em que a maioria destas infecções são adquiridas em unidades de saúde.

Palavras-chave: Infecções Fúngicas Invasivas; Unidades de Cuidados Intensivos; Diagnóstico; Tratamento

Abstract

Invasive Fungal Infections (IFI) are a growing problem especially in hospitalized patients in the Intensive Care Unit (ICU), and are associated with high mortality rates. There are many risk factors related to the care in the ICU, particularly total parental nutrition, mechanical ventilation, surgery, among others. The etiological agents most commonly involved in this type of infections are the *Candida* species, mainly *C. albicans*. However, in the last few years it was verified that there has been an increasing in the number of IFI by non-*albicans* species, by filamentous fungi of the genus *Aspergillus* and *Mucorales*. The standard diagnosis continues to be fulfilled with foundation on traditional methodologies, despite the numerous disadvantages presented. New non-invasive and more accurate methods developed recently consist especially on the determination of the components of the cell wall, in molecular techniques, in *immuno chromatographic* assays and in mass spectrometry. The currently available antifungal arsenal can be summed up in three classes of drugs, polyenes, triazoles and echinocandins, yet new promising molecules have been developed. Other investigated treatment strategies go through the treatment combination, the prophylactic treatment, pre-emptive or empiric. Immunotherapy with appeal to pro-inflammatory cytokines and colony-stimulating factors, just as well as the development of experimental vaccines have been objects of investigation. The implementation of preventive measures plays a role major relevance in the way that the majority of these infections are acquired in health units.

Keywords: Invasive Fungal Infections; Intensive Care Unit; Diagnosis; Treatment

Índice Geral

Índice de Figuras	9
Índice de Tabelas	11
1. Introdução.....	15
2. Fatores de risco.....	19
3. Epidemiologia	21
4. Etiologia.....	23
4.1 <i>Candida</i> spp	23
4.2 <i>Aspergillus</i> spp.....	30
4.3 <i>Mucolares</i> spp.....	34
4.4 <i>Cryptococcus</i> spp	37
5. Diagnóstico micológico.....	40
5.1 Métodos tradicionais.....	40
<input type="checkbox"/> Microscopia direta	40
<input type="checkbox"/> Cultura	41
<input type="checkbox"/> Histopatologia	42
<input type="checkbox"/> Radiologia.....	43
5.2 Métodos recentes.....	43
<input type="checkbox"/> Teste galactomanano.....	44
<input type="checkbox"/> Teste β -D-glucano.....	45
<input type="checkbox"/> Teste do manano	47
<input type="checkbox"/> Teste do antígeno criptocócico	47
<input type="checkbox"/> PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	48
<input type="checkbox"/> PNA FISH (<i>Peptide Nucleic Acid Fluorescence in situ Hybridization</i>).....	48
<input type="checkbox"/> Outros.....	49
5.3 Diagnóstico específico para cada agente etiológico.....	51
6.1 Fármacos antifúngicos.....	52
<input type="checkbox"/> Polienos.....	53
<input type="checkbox"/> Triazóis	55
<input type="checkbox"/> Equinocandinas.....	59
6.2 Diretrizes para o tratamento de IFI.....	62
6.3 Outras opções de tratamento	63

□ Tratamento profilático	63
□ Tratamento empírico	64
□ Tratamento preventivo	64
6.4 Futuras opções terapêuticas.....	65
□ Novos fármacos	65
□ Imunoterapia e vacinas	68
7. Medidas Preventivas	71
8. Conclusão	74
9. Bibliografia	77
Anexo 1: Critérios para doença fúngica invasiva provável/possível	
Anexo 2: Patogénese da aspergilose invasiva em diferentes contextos imunológicos	
Anexo 3: Características do agente antifúngico “ideal”	
Anexo 4: Tratamento para candidose invasiva em doentes não neutropénicos de acordo com diferentes diretrizes	

Índice de Figuras

Figura 1: Distribuição geográfica de <i>Candida</i> spp.	26
Figura 2: Taxa de mortalidade comprovada ou provável de aspergilose invasiva nas UCI	31
Figura 3: Locais de infecção em relação à doença de base (Diabetes e Neoplasias Hematológicas).....	36
Figura 4: Distribuição do <i>Cryptococcus</i> no meio ambiente e sua patogénese.....	38
Figura 5: Resultados típicos do <i>Lateral Flow Device</i>	51
Figura 6: Local alvo na célula fúngica para as diferentes classes de antifúngicos	53
Figura 7: Espectro de atividade dos fármacos antifúngicos.....	54
Figura 8: Evolução do desenvolvimento de agentes antifúngicos ao longo do tempo .	56
Figura 9: Estruturas da Enfumafungina e seu derivado semissintético MK-3118.....	66
Figura 10: Estrutura química das diferentes piperazinil-piridazinonas.....	67
Figura 11: Esquema de uma sala com ambiente protegido	72

Índice de Tabelas

Tabela 1: Fatores de risco para o desenvolvimento de IFI.....	20
Tabela 2: Fatores de risco e respetiva pontuação segundo o sistema de classificação das IFI nas UCI.....	21
Tabela 3: Espécies de <i>Candida</i> responsáveis por IFI em humanos	23
Tabela 4: Principais características e fatores que afetam a emergência de <i>Candida</i> não- <i>albicans</i>	25
Tabela 5: Fatores de risco que favorecem a IFI por <i>Candida</i> nas UCI.....	29
Tabela 6: Estratificação dos fatores de risco para aspergilose, nos doentes internados nas UCI.....	33
Tabela 7: Componentes potenciais do sistema de Estratificação do risco de mucormicose.....	36
Tabela 8: Aspetos microscópicos característicos de fungos patogénicos e oportunistas em amostras clínicas	41
Tabela 9: Métodos de diagnóstico para os quatro principais agentes etiológicos responsáveis por IFI nas UCI	51
Tabela 10: Indicações terapêuticas e ano de AIM das formulações lipídicas de anfotericina B disponíveis em Portugal.....	55
Tabela 11: Propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas dos antifúngicos azólicos	57
Tabela 12: Indicações terapêuticas e ano de AIM dos triazóis disponíveis em Portugal para tratamento IFI	58
Tabela 13: Comparação das propriedades major e dos parâmetros farmacocinéticos das equinocandinas nos adultos	60
Tabela 14: Exemplos de novos fármacos/moléculas em desenvolvimento, bem como o respetivo mecanismo de ação e espetro de atividade	66
Tabela 15: Lista provisória das vacinas fúngicas experimentais	70

Lista de Abreviaturas

ABPA- Aspergilose Bronco-Pulmonar Alérgica

AI- Aspergilose Invasiva

AIM- Autorização de Introdução no Mercado

API- Aspergilose Pulmonar Invasiva

APACHE- *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*

CHMP- Comité dos Medicamentos para Uso Humano

CI- Candidose invasiva

CME- Concentração Mínima Efetiva

CMI- Concentração Mínima Inibitória

CMV- Citomegalovírus

CS- *Candida Score*

DGS- Direção Geral de Saúde

DPOC- Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica

EPIC- *Extended Prevalence of Infection in Intensive Care*

ESCMID- *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*

EORTC/MSG- *European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group*

EUA- Estados Unidos da América

FCE- Fluido Cérebroespinal

FDA- *Food and Drug Administration*

FLBA- Fluido de Lavagem BroncoAlveolar

FLC- Fluconazol

GI- Gastrointestinal

GPI- Glicosilfosfatidilinositol

HSP- *Heat Shock Protein*

IDSA- *Infectious Diseases Society of America*

IFI- Infecção Fúngica Invasiva

IFN- γ - Interferão- γ

IL- InterLeucinas

IN- Infecções Nosocomiais

INFARMED- Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde

IR- Insuficiência Renal

ISA- Isavuconazol

ITC- Itraconazol

LCR- Líquido Cefalorraquidiano

LFD- *Lateral Flow Device*

MALDI-TOF- *Matrix Associated Laser Desorption-Ionization - Time of Flight*

PAP- *Poly-Adenosine Polymerase*

PATH- *Prospective Antifungal Therapy*

PCR- *Polymerase Chain Reaction*

PMN- Polimorfonucleares

PNA FISH- *Peptide Nucleic Acid Fluorescence in situ Hybridization*

POS- Posaconazol

PP- Proteínas Plasmáticas

SDA- *Sabouraud Dextrose Agar*

SEIMC- *Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology*

SIDA- Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SNC- Sistema Nervoso Central

TC- Tomografia Computorizada

TLRs- *Toll-like receptors*

TNF- *Tumour Necrosis Factor*

UCI- Unidade de Cuidados Intensivos

UE- União Europeia

VIH- Vírus da Imunodeficiência Humana

VOR- Voriconazol

1. Introdução

As infecções nosocomiais (IN), também designadas por “infecções adquiridas no hospital” ou “infecções hospitalares” são infecções adquiridas durante o internamento que não estavam presentes ou em incubação à data da admissão (Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, 2002). Para além das bactérias, fungos, vírus e parasitas podem ser causa deste tipo de infecções. O problema das IN remonta ao século XVIII, em que não existiam antissépticos nem desinfetantes, não se procedia à esterilização de instrumentos nem de roupas utilizadas para cirurgias, não se realizava limpeza de feridas e a colocação de luvas era um procedimento desconhecido. Também os recursos hospitalares eram bastante escassos, por exemplo nos países em desenvolvimento uma cama de solteiro era partilhada pelo menos por dois doentes o que predispõe para o desenvolvimento de IN (Nyamogoba & Obala, 2002).

Em 1867 Lister descreve as suas técnicas antissépticas que reduziram significativamente os casos de *sepsis* cirúrgica, e os médicos tomam consciência que determinadas doenças podem propagar-se entre os doentes internados, surgindo assim a prática de isolamento dos doentes infetados. Cerca de 70 anos depois surgem os primeiros antibióticos e o problema das IN parece resolvido, no entanto as expectativas não foram superadas e observa-se uma alteração na etiologia destas infecções. Uma das principais mudanças verificadas consiste na emergência de espécies de *Candida* como uma causa importante de IN (Nyamogoba & Obala, 2002).

A associação entre doença infecciosa e fungos surgiu em 1835 pelas mãos de Agostino Bassi, considerado o “pai da micologia médica”. A sua investigação demonstrou a relação entre o fungo *Botrytis bassiani* (mais tarde designado por *Beauveria bassiana*) e a muscardina (doença que atacava o bicho da seda), estimulando assim o interesse pelo estudo de doenças no Homem provocadas por fungos. Uns anos mais tarde David Gruby e Robert Remak, descobrem a primeira micose humana (*tinea favosa*) estabelecendo a conexão entre fungos e seres humanos. Com o decorrer dos anos os fungos são associados a doenças sistémicas, desenvolvem-se sistemas de classificação para identificação com base nas características morfológicas e testes de diagnóstico laboratorial como por exemplo preparações com tinta da Índia para visualização da cápsula de *Cryptococcus neoformans*. A Segunda Guerra Mundial é também um marco importante para a história da micologia médica pois surgem os primeiros estudos

epidemiológicos e ecológicos sobre doenças fúngicas e mais centros de formação e investigação (Espinel-Ingroff, 1996).

É também por esta altura, em consequência do número elevado de soldados gravemente feridos que as unidades especializadas em reanimação adquirem maior importância, no entanto o primeiro conceito de UCI surgiu no ano de 1850, durante a Guerra da Criméia por Florence Nightingale. Outros dois momentos importantes na história das UCIs ocorrem em 1923 quando Dr. Walter Edward Dandy abre a primeira unidade para doentes no pós-operatório de neurocirurgia, e em 1958 quando Dr. Peter Safar estabelece uma UCI multidisciplinar num hospital em Baltimore, Estados Unidos da América (EUA) (Vincent, 2013).

A década de 1950 é de extrema importância para as infeções fúngicas pois é quando surgem os primeiros agentes antifúngicos ativos no Homem, a nistatina e a anfotericina B. Paralelamente, estudos estabelecem pela primeira vez a relação entre IFI e indivíduos imunocomprometidos, nomeadamente os que receberam antibióticos bem como citotóxicos ou agentes imunossuppressores, os que apresentaram certas neoplasias e diabetes. Uma década mais tarde, estas infeções são associadas a elevadas taxas de morbilidade e mortalidade em doentes com cancro, leucemias e transplantados (Espinel-Ingroff, 1996).

Ao longo dos anos as UCI também evoluíram, com desenvolvimento de tecnologias de suporte de vida mais sofisticadas e técnicas invasivas de monitorização dos doentes, como sejam por exemplo administração de oxigénio e transfusões sanguíneas (Vincent, 2013). Todas estas melhorias contribuíram não só para o aumento do número de doentes imunodeprimidos como também para o aumento da incidência das infeções oportunistas provocadas por fungos (Paramythiotou, Frantzeskaki, Flevari, Armaganidis & Dimopoulos, 2014). Estas unidades debateram-se com o decorrer do tempo com grandes problemas no controlo de infeções, sendo que de acordo com um estudo epidemiológico sobre *sepsis* realizado nos EUA entre 1979 e 2000, o número de *sepsis* fúngica triplicou (Martin, Mannino, Eaton & Moss, 2003). Na década atual as UCI continuam a ser locais problemáticos de infeções uma vez que são consideradas as unidades com maior prevalência de IN (DGS, 2012).

Face aos resultados apresentados pelas IFI, em 1991 surge Grupo Cooperativo das Infeções Fúngicas Invasivas da Organização Europeia para Pesquisa e Tratamento de

Cancro (EORTC abreviatura em inglês para *European Organization for Research and Treatment of Cancer*) com o objetivo de investigar clinicamente a epidemiologia, diagnóstico, prevenção e tratamento destas infeções, alertar os profissionais de saúde para a morbilidade e mortalidade associadas a estas infeções e proporcionar uma ideia dos custos económicos para a sociedade e sistemas de saúde (De Pauw, Herbrecht & Meunier, 2002).

Cerca de 10 anos depois em conjunto com Grupo de Estudo de Micologia (MSG, abreviatura em inglês para *Mycoses Study Group*) do Instituto Nacional de Alergia e Doenças Infeciosas publicam as definições padrão das IFIs, não para serem usadas como orientações para a prática clínica mas sim para investigação clínica e/ou epidemiológica (Ascioglu et al., 2002). No entanto, face às deficiências que as definições apresentavam, estas foram revistas e seis anos depois foram novamente publicadas (De Pauw et al., 2008). Os três níveis de probabilidade propostos inicialmente (provada, provável e possível) são mantidos embora os critérios tenham sofrido pequenas alterações. A deteção de elementos fúngicos em cultura ou num tecido com lesão histopatológica constitui uma infeção provada. No caso de infeção provável, requer-se a presença de um fator relacionado com o hospedeiro, manifestações clínicas e evidência micológica (Anexo 1), enquanto na infeção possível não se inclui evidência micológica (apenas um fator do hospedeiro e um fator clínico são suficientes). Estes autores referem que o principal objetivo das definições é “promover a comunicação entre pesquisadores internacionais, aprofundar o conhecimento da epidemiologia e evolução das IFI e facilitar a projeção de ensaios clínicos para avaliar medicamentos e estratégias terapêuticas”.

Os objetivos do presente trabalho são os seguintes:

- Identificar os vários fatores de risco para o desenvolvimento de IFI, sobretudo nos doentes internados nas UCI;
- Descrever a epidemiologia das IFI, com maior foco na Europa e em Portugal;
- Descrever para os agentes etiológicos mais frequentemente envolvidos neste tipo de infeções, a sua epidemiologia, patogénese e fatores de virulência, manifestações clínicas e fatores de risco;
- Enumerar as várias metodologias de diagnóstico, quer as tradicionais quer as mais recentes, mencionando as vantagens/desvantagens das mesmas;

- Dar a conhecer as várias classes de antifúngicos disponíveis no mercado atualmente, as diferentes estratégias de tratamento possíveis, as diversas *guidelines* publicadas bem como as novas moléculas/fármacos, agentes biológicos e vacinas em estudo para o tratamento das IFI;
- Por último, mencionar as várias medidas preventivas que podem ser adotadas para diminuição da incidência das IFI.

2. Fatores de risco

A determinação dos fatores de risco desempenha um papel de grande relevância uma vez que os métodos de diagnóstico, como veremos mais à frente, carecem de sensibilidade e especificidade para o diagnóstico precoce.

No capítulo da Etiologia encontram-se descritos os vários fatores de risco para cada agente etiológico responsável por IFI, no entanto existem publicados vários trabalhos sobre os fatores predisponentes para o desenvolvimento de IFI. Yang et al. (2013), desenvolveram um estudo prospectivo num hospital no Norte de Taiwan com o objetivo de determinar os fatores de risco que predispunham para IFI associadas a cuidados de saúde nas UCI. Os fatores incluíram a utilização de nutrição parental total, *sepsis*, cirurgia, ventilação mecânica e utilização permanente de cateter urinário.

Em 2014, Casucci, Provenzani & Polidori realizaram um trabalho retrospectivo observacional de um ano em Itália com o intuito de identificar os fatores de risco associados a IFI em doentes imunocomprometidos. Os fatores identificados foram utilização de cateter venoso central (65.3%), nutrição parental total (56.4%), diálise (46.5%), terapêutica imunossupressora (42.6%), ventilação mecânica (32.7%), neutropenia (24.8%), terapêutica com corticosteroides (23.8%) e utilização de dispositivos médicos (14.9%).

Uma revisão sistemática realizada em 2011 por Muskett et al., demonstrou que os fatores de risco como a cirurgia, nutrição parental total, colonização fúngica, terapia de substituição renal (como hemodiálise ou hemofiltração), infeção e/ou *sepsis*, ventilação mecânica, diabetes e score APACHE II ou III (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*) foram associados de forma significativa com IFI em vários estudos. O score APACHE é um sistema de pontuação utilizado nas UCI para determinar a gravidade dos doentes, e quanto maior o seu valor mais grave é o estado de saúde do doente.

Os recetores de transplantes de órgãos sólidos (fígado, coração, pulmão e rim) têm sido considerados fator de risco para o desenvolvimento de IFI, uma vez que estas infeções são uma importante causa de morbilidade e mortalidade nestes doentes. Bodro et al. (2012), desenvolveram um estudo de coorte retrospectivo num hospital universitário em Espanha em doentes com episódios de IFI que receberam transplantes de órgãos sólidos entre 2008 e 2011. Os autores verificaram que 2.7% dos transplantados desenvolveram

IFI e que a taxa de mortalidade foi elevada (60%). Também os recetores de transplantes de células estaminais hematopoiéticas são considerados fator de risco, uma vez que as taxas de mortalidade associadas a IFI nestes doentes são elevadas (Kontoyiannis et al., 2010).

Para além destes, os doentes com neoplasias hematológicas (como por exemplo leucemia linfóide aguda, leucemia mieloide crónica e mieloma múltiplo entre outros) também são considerados fator de risco, pois as IFI são a causa primária de morbilidade e mortalidade em doentes com doenças hematológicas malignas (Ruhnke et al., 2011). As doenças malignas não hematológicas, principalmente os tumores também se podem incluir nos fatores de risco, porque segundo Sipsas & Kontoyiannis (2012), “apesar da introdução de antifúngicos mais potentes e menos tóxicos a mortalidade devido a IFI em doentes com cancro permanece alta”.

Outros fatores de risco predisponentes para IFI incluem estadia prolongada nas UCI, utilização de antibióticos de largo espectro, insuficiência renal (IR) aguda, pancreatite aguda severa, queimaduras, extremos das idades, vírus da imunodeficiência humana (VIH), citomegalovírus (CMV), *Mycobacterium tuberculosis* e tratamento inadequado das infeções fúngicas superficiais (Ashley, s.d.; Ramana et al., 2013). A Tabela 1 resume os fatores de risco para o desenvolvimento de IFI.

Tabela 1: Fatores de risco para o desenvolvimento de IFI

<ul style="list-style-type: none"> • Nutrição parental total • Cateter venoso central • Cateter urinário permanente • Ventilação mecânica • Dialise • Terapêutica imunossupressora • Terapêutica com corticosteroides • Terapêutica de substituição renal • Utilização dispositivos médicos • Colonização fúngica • Estadia prolongada nas UCI • Utilização de antibióticos de largo espectro • Tratamento inadequado de infeções fúngicas superficiais • Score APACHE II elevado 	<ul style="list-style-type: none"> • Diabetes • IR aguda • Pancreatite aguda severa • Cirurgia • Sepsis • Queimaduras • Neutropenia • Recetores de transplantes de órgãos sólidos • Recetores de transplantes de células estaminais hematopoiéticas • Neoplasias hematológicas e não-hematológicas • VIH/SIDA • CMV • <i>Mycobacterium tuberculosis</i> • Extremos das idades
---	---

Como veremos mais à frente, vários autores têm-se dedicado ao estudo de sistemas de previsão de risco e sistemas de pontuação para *Candida*. Contudo, sistemas

direcionados a IFI em geral que permitam identificar os doentes com alto risco de desenvolver estas infeções são escassos.

Liao, Zhong, Xu & Li (2013), desenvolveram um sistema de classificação do risco para o desenvolvimento de IFI nas UCI, que permite qualificar os doentes em três níveis, baixo risco (≤ 8 pontos), médio (9-13 pontos) e alto (≥ 14 pontos). Este sistema tem por base sete fatores de risco e cada um corresponde a uma pontuação (Tabela 2). Segundo os autores este sistema pode ser útil para ajudar os médicos a decidir se o doente beneficia ou não de terapêutica profilática e/ou empírica.

Tabela 2: Fatores de risco e respetiva pontuação segundo o sistema de classificação das IFI nas UCI (Adaptado de Liao, Zhong, Xu & Li, 2013)

Fatores de risco	Pontuação
Diabetes <i>mellitus</i>	5
Cirurgia gastrointestinal	5
Neoplasias hematológicas	4
Antibióticos de largo espectro ≥ 4 dias	4
Cateter venoso central	3
Nutrição parental total	3
Ventilação mecânica ≥ 2 dias	2
Total de pontos	26

3. Epidemiologia

A epidemiologia das IFI é bastante difícil de estabelecer devido às discrepâncias nos estudos publicados, isto é, as definições utilizadas pelos autores, os grupos de doentes estudados e os próprios locais onde são realizados os estudos são diferentes (Kriengkauykiat, Ito & Dadwal, 2011). Alguns autores referem principalmente diferenças no desenho dos estudos uma vez que a maioria dos trabalhos publicados no Norte da América são multicêntricos e obtidos de dados nacionais, ao contrário do que se sucede na Europa onde a maioria inclui um único centro (Yapar, 2014; Lass-Flörl, 2009).

Nos últimos anos tem-se assistido a uma mudança na epidemiologia das IFI, porém as causas não são totalmente conhecidas mas pensa-se que possa dever-se a uma série de fatores. As infeções por espécies de *Candida* continuam a ser a causa mais comum de IFI nas UCI (Guinea, 2014), no entanto tem-se verificado um aumento do número de infeções devido a espécies de *Aspergillus* e de outros fungos filamentosos como *Mucorales* (Shoham & Marwaha, 2010; Binder & Lass-Flörl, 2011). Outras alterações observadas são o aumento da frequência de infeções por espécies não- *albicans* (Oren &

Paul, 2014) e no caso de espécies de *Cryptococcus*, um aumento da emergência de *C. gattii* na Europa (Hagen et al., 2012). Exemplos de fatores que podem ter contribuído para estas alterações consistem no uso profilático de fluconazol e de voriconazol, em estratégias de tratamento para os doentes de alto risco, no aumento do número de procedimentos invasivos e no aumento da sobrevivência dos doentes devido aos avanços nos cuidados médicos (Castón-Osorio, Rivero & Torre-Cisneros, 2008; Lass-Flörl, 2009). No capítulo da etiologia a epidemiologia de cada agente etiológico é descrita em maior pormenor.

Estima-se que na Europa a incidência das IFI seja inferior a 5 casos por cada 100000 habitantes, com exceção da Dinamarca que apresenta valores bastante superiores (Lass-Flörl, 2009), contudo nas últimas décadas tem-se verificado um aumento nas taxas de incidência. Este aumento resulta da melhoria dos cuidados médicos e do aumento do número de doentes imunodeprimidos, que são mais vulneráveis a este tipo de infeções (Bicanic & Harrison, 2014). As IFI são particularmente preocupantes em doentes internados nas UCIs, devido à complexidade das condições clínicas que apresentam (Montagna et al., 2013).

A taxa de mortalidade associada a IFI é bastante elevada, na maioria dos casos superior a 50% (Delaloye & Calandra, 2014; Dimopoulos, Frantzeskaki, Poulakou & Armaganidis, 2012; Skiada et al., 2011; Binder & Lass-Flörl, 2011), e depende não só do fungo envolvido na infeção como também das condições dos doentes infetados (Binder & Lass-Flörl, 2011; Kontoyiannis, 2012b).

Em Portugal, existem apenas dois estudos epidemiológicos sobre IFI e as taxas de incidência variam consideravelmente entre si. Estas discrepâncias podem dever-se ao diferente desenho de estudo uma vez que um é multicêntrico e outro se restringe a um único hospital. Em 2008, Costa de Oliveira, Pina Vaz, Mendonça & Rodrigues analisaram num estudo observacional prospetivo a incidência das IFI no hospital de São João no Porto que era de 2 casos por cada 1000 admissões hospitalares, com um índice de mortalidade de 39.3%. Este estudo também permitiu verificar que os fungos representam 3.5% de todos os microrganismos responsáveis por septicemia, correspondendo á quarta causa de *sepsis*. O outro estudo realizado incluiu dez hospitais distritais e neste caso, a incidência das IFI foi de 0.88/1000 admissões (variou entre

0.15 e 2.4) o que os autores consideraram comparável com outros países europeus, sendo que a taxa de mortalidade foi de 25% (Faria Ramos et al., 2014).

4. Etiologia

As infecções fúngicas dependendo da virulência e patogenicidade podem ser provocadas por dois tipos de fungos, os verdadeiros fungos patogénicos, também designados por fungos dimórficos e os fungos oportunistas (Ramana, 2013). Dentro do primeiro grupo incluem-se *Blastomyces*, *Histoplasma*, *Coccidioides*, *Paracoccidioides* e *Penicillium marneffei*. Estes fungos são designados desta forma pois têm a capacidade de causar infecções num hospedeiro imunocompetente. No segundo grupo inserem-se as leveduras do género *Candida* spp (que fazem parte da flora endógena do Homem) e do género *Cryptococcus*, e os fungos filamentosos septados *Aspergillus* spp. e os asseptados *Zygomycetes* spp (Bajwa & Kulshrestha, 2013). Os fungos oportunistas referidos anteriormente serão alvo de maior análise uma vez que são os principais agentes implicados em IFI nas UCI (Kriengkauykiat et al., 2011; Binder & Lass-Flörl, 2011; Paramythiotou et al., 2014).

4.1 *Candida* spp

Epidemiologia

Existem mais de 150 espécies de *Candida* conhecidas, no entanto apenas 15 (Tabela 3) foram identificadas como agentes responsáveis por infecções fúngicas no Homem (Yapar, 2014). Destas 15, a *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. krusei* são as mais frequentemente isoladas (Guinea, 2014).

Tabela 3: Espécies de *Candida* responsáveis por IFI em humanos (Adaptado de Yapar, 2014)

• <i>Candida albicans</i>	• <i>Candida guilliermondii</i>	• <i>Candida lipolytica</i>
• <i>Candida glabrata</i>	• <i>Candida lusitanae</i>	• <i>Candida famata</i>
• <i>Candida parapsilosis</i>	• <i>Candida dubliniensis</i>	• <i>Candida inconspícua</i>
• <i>Candida tropicalis</i>	• <i>Candida pelliculosa</i>	• <i>Candida rugosa</i>
• <i>Candida krusei</i>	• <i>Candida kefyr</i>	• <i>Candida norvegensis</i>

Os fungos pertencentes ao género *Candida* têm sido identificados em vários estudos epidemiológicos como os agentes etiológicos mais frequentemente envolvidos em IFI (Castón-Orsorio et al., 2008; Binder & Lass-Flörl, 2011; Bajwa & Kulshrestha, 2013; Paramythiotou et al., 2014; Guinea, 2014; Oren & Paul, 2014).

A incidência da candidose é bastante difícil de estabelecer devido à diversidade de estudos epidemiológicos publicados. De acordo com um estudo realizado pela *Extended Prevalence of Infection in Intensive Care* (EPIC II) sobre as infeções sistémicas provocadas por *Candida* que incluiu 1265 UCI de 76 países, a prevalência das infeções sistémicas devido a este fungo é de 6.9 por 1000 doentes (Kett, Azoulay, Echeverria & Vincent, 2011). Em 2007, Pfaller & Diekema demonstraram no seu trabalho sobre epidemiologia da candidose invasiva (CI) que a incidência desta infeção era de 72.8 por milhão por ano. Na Europa as taxas de incidência de candidemia variam entre 0.17 e 20 por 1000 admissões, sendo que por norma são inferiores às referidas nos EUA (Lass-Flörl, 2009).

Os estudos epidemiológicos sobre candidose em Portugal são escassos, o que torna difícil a caracterização epidemiológica desta infeção neste país. No entanto em 2010, Sabino et al. publicaram um estudo realizado durante 6 anos num hospital oncológico em Portugal, cujo objetivo, entre outros, era avaliar a epidemiologia da candidose mais concretamente a incidência e a distribuição. Os autores verificaram que dos 421 doentes com cancro que apresentavam sinais e sintomas de infeção, 110 (26.1%) exibiam culturas de sangue positivas para esta levedura e que a taxa de mortalidade devida a esta infeção era de 58.2%. Outros estudos realizados acerca das IFI em Portugal, também relevaram que as espécies do género *Candida* foram as mais isoladas (Costa-de-Oliveira et al., 2008; Faria-Ramos et al., 2014).

A taxa de mortalidade associada a *Candida* é preocupante pois para além de ser elevada (entre 40% e 60%) (Delaloye & Calandra, 2014), segundo Montagna et al. (2014), “a mortalidade associada com candidemia não mudou substancialmente nas últimas duas décadas, apesar da disponibilidade de agentes antifúngicos menos tóxicos e mais ativos.”

A epidemiologia da infeção por *Candida* tem sofrido alterações ao longo dos anos, principalmente nas duas últimas décadas. Apesar da espécie *C. albicans* continuar a ser a espécie mais isolada de pacientes com candidemia (Montagna et al., 2014; Guinea, 2014), tem-se verificado uma diminuição na sua incidência e o conseqüente aumento de espécies não-*albicans*. Esta mudança ainda não está bem esclarecida no entanto a razão fundamental prende-se com o uso profilático de fluconazol (Bouza & Muñoz, 2008; Castón-Osorio et al., 2008; Ashley, s.d.; Paramythiotou et al., 2014; Yapar, 2014).

Segundo um estudo realizado em Itália, das 92 IFI provocadas por *Candida*, 37 foram causadas por *C. albicans* e 55 por espécies não- *albicans*. Dentro deste último grupo *C. parapsilosis* foi a responsável por um maior número de infeções (61,8%), seguida de *C. glabrata* (16,4%) e *C. tropicalis* (16,4%) (Montagna et al., 2013). Outro trabalho efetuado na área da epidemiologia da candidemia, revelou que a incidência desta infeção provocada por espécies não- *albicans* (54,4%) era superior à incidência devida a *C. albicans* (45,6%). Ao contrário do estudo referido anteriormente, *C. glabrata* (26,0%) foi a principal espécie não-*albicans* envolvida nas infeções, seguida de *C. parapsilosis* (15,7%), *C. tropicalis* (8,1%) e *C. krusei* (2,5%) (Horn et al., 2009).

A distribuição das espécies de *Candida* pode ser influenciada não só pelas condições predisponentes dos doentes como pela área geográfica (Guinea, 2014). Consoante os fatores predisponentes, assim a espécie não- *albicans* envolvida na infeção será diferente. Por exemplo no caso de *C. glabrata* a idade avançada está mais associada a estes fungos, pelo contrário, *C. parapsilosis* está associada aos mais jovens. A Tabela 4 resume estas condições.

Tabela 4: Principais características e fatores que afetam a emergência de *Candida* não- *albicans* (Adaptado de Paramythiotou et al., 2014)

<i>C. glabrata</i>	Mais comum em idosos Mais comum em doenças malignas Variação geográfica Associada ao uso de antibióticos específicos (piperacilina/tazobactam, vancomicina) Comum em doentes com nutrição parentérica total e com cateter venoso central Transplantados de órgãos sólidos Exposição ao fluconazol
<i>C. parapsilosis</i>	Surtos nosocomiais Formação de biofilmes nos cateteres venosos centrais Nutrição parentérica total Baixa suscetibilidade às equinocandinas Dispositivos implantados Mais isolada em crianças
<i>C. tropicalis</i>	Neoplasias malignas hematológicas Neutropenia
<i>C. krusei</i>	Uso de piperacilina/tazobactam, vancomicina Resistência inata ao fluconazol Neoplasias malignas hematológicas Neutropenia Recente cirurgia gastrointestinal Exposição ao fluconazol
<i>C. guilliermondii</i>	Menor suscetibilidade às equinocandinas Menor suscetibilidade ao fluconazol Cateteres intravasculares

Na Figura 1 é possível observar a influência da área geográfica na distribuição das espécies de *Candida*. Tal como mencionado anteriormente *C. albicans* continua a ser a espécie mais isolada, no entanto no que diz respeito a *C. glabrata* e *C. parapsilosis* diferenças consideráveis têm sido observadas. Por exemplo *C. parapsilosis* é considerada a segunda espécie mais comum no sul da Europa e no sul da América, sendo que os estudos realizados principalmente em Espanha e no Brasil reportam um número elevado de infeções provocadas por esta espécie. Pelo contrário, no norte da América e no norte da Europa *C. glabrata* é a segunda mais prevalente (Toubas, 2013; Guinea, 2014).

Na Índia, o cenário é diferente sendo *C. tropicalis* a espécie mais isolada. Paswan, Raju, Singh, Khuba & Dubey (2012), desenvolveram um estudo prospetivo em 412 doentes entre Junho de 2009 e Outubro de 2011 numa UCI na Índia. Os resultados deste trabalho demonstraram que dos 106 doentes identificados com candidemia, 52 das infeções (o que corresponde a 49%) eram provocadas por *C. tropicalis*.

No trabalho realizado por Yapar (2014), este refere algumas das possíveis razões para as diferentes taxas de incidência, destacam-se o diferente número de camas dos hospitais envolvidos nos estudos, as discrepâncias nas práticas médicas e nos recursos disponíveis para diagnóstico e cuidados médicos, assim como, a dificuldade na implementação e gestão de um sistema de controlo de infeções. Para além destes fatores também as características demográficas dos próprios doentes e as doenças crónicas subjacentes são responsáveis por estas variações. Guinea (2014) refere também que o próprio clima e a política de utilização dos antifúngicos podem ter influência nestes resultados.

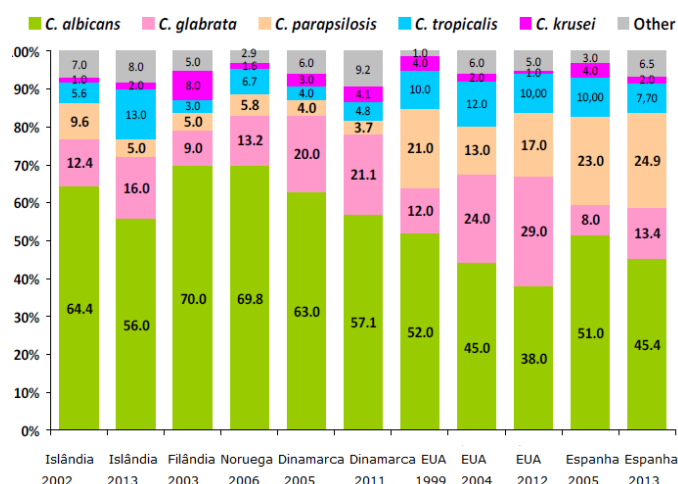


Figura 1: Distribuição geográfica de *Candida* spp. (Adaptado de Guinea, 2014)

Patogénese e Fatores de Virulência

Os fungos pertencentes ao género *Candida* possuem a capacidade de colonizar a pele e as mucosas de indivíduos saudáveis e fazem parte da flora normal do intestino, da cavidade oral e do sistema urinário. Estas leveduras podem entrar na corrente sanguínea por penetração direta devido a danos no tecido ou pela disseminação de biofilmes formados nos dispositivos médicos e assim infectar praticamente todos os órgãos (Karkowska-Kuleta, Rapala-Kozik & Kozik, 2009). Posto isto, a patogénese da CI pode ser influenciada essencialmente por três fatores: aumento da colonização fúngica, desequilíbrio nas mucosas, epitélio ou função barreira da pele e ainda pela perda dos mecanismos de controlo imunológico para a prevenção da disseminação e proliferação nos tecidos profundos e órgãos (Walsh & Rex, 2002).

Os fatores de virulência incluem o dimorfismo, isto é, a levedura possui a capacidade de alternar entre levedura unicelular e formas filamentosas designadas de hifas e pseudohifas, *switching* fenotípico que consiste na mudança da aparência e da forma das colónias, a presença de adesinas que permitem a aderência do fungo às células do hospedeiro e a formação de biofilmes. Outros fatores incluem trigmotropismo, ou seja, o fungo consegue encontrar descontinuidades entre as células para penetrar nos tecidos e secreção de enzimas hidrolíticas como proteases, lípases e fosfolipases que facilitam a penetração do fungo nas células e a aquisição de nutrientes extracelulares. A aquisição de metais do meio ambiente, a adaptação metabólica, a resposta ao stress ambiental bem como a capacidade de se adaptar a diferentes valores de pH também são considerados fatores de virulência (Mayer, Wilson & Hube, 2013).

Manifestações clínicas

As formas de manifestação *major* de CI são seis, a candidemia e candidose disseminada, a candidose urinária que afeta sobretudo as mulheres, a peritonite por *Candida* que se desenvolve particularmente em doentes sujeitos a cirurgia abdominal ou pacientes com cateteres para diálise peritoneal, a pneumonia por *Candida*, a candidíase esofágica e gastrointestinal e ainda a candidíase ocular. De todas estas formas de manifestação, a candidemia é descrita como sendo a mais comum e é frequentemente associada a febres altas e a *sepsis* (Delaloye & Calandra, 2014; Bicanic & Harrison, 2014). Para além destas manifestações, outras formas *minor* têm sido descritas muito raramente como sejam a meningite, a osteomielite, artrite infecciosa e a endocardite

(Walsh & Rex, 2002). A pele e os tecidos moles também são locais frequentemente afetados, sendo que a infecção se manifesta por erupção cutânea com apresentação variável desde eritema maculopapular a lesões nodulares podendo ser doloroso (Kriengkauykiat et al., 2011).

De acordo com um estudo prospetivo realizado em 2009, os principais órgãos afetados com candidemia foram o abdómen, os pulmões, a pele e tecidos moles, os olhos, o coração, a árvore traqueobrônquica, o esqueleto e o sistema nervoso central (SNC) (Horn et al., 2009).

Por norma as infeções que afetam a pele, as mucosas e o trato urinário inferior são consideradas infeções mais suaves e de fácil tratamento. Pelo contrário as que atingem os órgãos, o sistema cardiovascular, os dispositivos de acesso intravascular como por exemplo os cateteres, e as infeções disseminadas estão associadas frequentemente a *sepsis* o que faz com sejam muito mais perigosas para a vida humana (Delaloye & Calandra, 2014).

Fatores de risco

Como já foi referido anteriormente, estes fungos fazem parte da flora normal do corpo humano o que faz com que alterações por exemplo ao nível da pele e mucosas como feridas, utilização de cateteres venosos centrais e quimioterapia sejam fatores predisponentes para o fungo se disseminar facilmente para a circulação sistémica. Outros fatores descritos são a estadia prolongada nas UCI (considerado o fator de risco major relacionado com cuidados de saúde), a idade avançada dos doentes, a cirurgia prévia particularmente a nível gastrointestinal (GI), a nutrição parental e a ventilação mecânica (Delaloye & Calandra, 2014). A Tabela 5 resume os fatores de risco que favorecem o desenvolvimento de IFI por fungos do género *Candida*.

O índice de colonização por *Candida* também tem sido referido como fator major para a IFI. Um estudo prospetivo realizado por Caggiano et al., 2011 numa UCI em Itália demonstrou que a monitorização deste índice ajuda a identificar precocemente os doentes com risco para o desenvolvimento destas infeções, o problema é que a distinção entre colonização e infeção é bastante difícil. A vantagem desta determinação antecipada é que os doentes podem realizar uma profilaxia antifúngica ou mesmo um tratamento antecipado.

Algumas condições clínicas também têm sido mencionadas como a diabetes *mellitus*, pancreatite, neutropenia, malnutrição, transplantes de órgãos, tumores sólidos e hematológicos e IR, sendo que neste último grupo se tem descrito em particular doentes a fazer hemodiálise e hemofiltração. O tratamento com certos fármacos também apresenta elevado risco para o desenvolvimento de infecções por *Candida*. Exemplos são os corticosteroides e outros agentes imunossupressores, os antagonistas dos recetores H2, os antibióticos de largo espectro ou por períodos prolongados e a profilaxia antifúngica (Delaloye & Calandra, 2014; Yapar, 2014; Toubas, 2013).

Para além destes fatores mencionados também se acresce no caso das crianças e dos recém-nascidos, a prematuridade, as malformações congénitas e o baixo peso à nascença (Yapar, 2014).

Tabela 5: Fatores de risco que favorecem a IFI por *Candida* nas UCI

-Quimioterapia	-Índice de colonização por	- Transplante de órgãos
-Feridas	<i>Candida</i>	-Tumores sólidos e hematológicos
-Utilização de cateteres	-Diabetes <i>mellitus</i>	-IR (hemodiálise e hemofiltração)
venosos centrais	-Pancreatite	-Tratamento com corticosteroides e
-Estadia prolongada nas UCI	-Neutropenia	agentes imunossupressores
-Idade avançada dos doentes	-Malformações congénitas	-Terapêutica com antagonistas H2
-Cirurgia prévia (sobretudo GI)	-Baixo peso à nascença	-Utilização prolongada de
-Nutrição parental	-Profilaxia antifúngica	antibióticos ou antibióticos de largo
-Ventilação mecânica	-Malnutrição	espectro

Vários autores (Michalopoulos et al., Phaphitou et al., Ostrosky-Zeichner et al., Shorr et al.) têm-se dedicado ao desenvolvimento de sistemas de previsão de risco e sistemas de pontuação baseados em parâmetros clínicos e laboratoriais. O objetivo principal destes sistemas é identificar os doentes com risco elevado de desenvolver IFI por leveduras do género *Candida* (Delaloye & Calandra, 2014).

O *Candida* score (CS) desenvolvido por Leon et al. (citado por Bassetti, Mikulska & Viscoli, 2010) é um desses sistemas de pontuação que se baseia em quatro fatores de risco, nutrição parental total (1 ponto), cirurgia (1 ponto), colonização por *Candida* (1 ponto) e *sepsis* grave (2 pontos). Uma pontuação superior a 2.5 significa que o doente apresenta risco de desenvolver IFI por *Candida*. Em 2011, Leroy et al. desenvolveram um estudo prospetivo em 5 UCI no norte de França, com 94 doentes testando a utilidade clínica deste sistema de pontuação, e os resultados demonstraram que os indivíduos com um score de 2 e 3, apresentaram uma taxa de CI de 0%, um score de 4 a taxa de infeção foi de 17.6% e os que apresentarem um score de 5 a taxa foi de 50%. Com base nestes

resultados, os autores defendem que existe uma “relação linear entre o aumento dos valores do CS e a taxa de CI” e que este sistema permite “diferenciar doentes que beneficiariam de tratamento antifúngico precoce daqueles para quem a CI é altamente improvável”.

4.2 *Aspergillus* spp.

Epidemiologia

Existem mais de 180 espécies de *Aspergillus* conhecidas, sendo que responsáveis por doença no ser humano destacam-se *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus* e *A. nidulans*. De todos os microrganismos referidos anteriormente, *A. fumigatus* é a espécie mais comumente responsável por doença invasiva (Dimopoulos et al., 2012; Bicanic & Harrison, 2014).

Estes fungos podem ser encontrados no solo, em plantas em decomposição, poeira doméstica, certos alimentos, especialmente nos não cozinhados e em alguns materiais de construção, embora nas UCI sejam encontrados principalmente nos sistemas de ventilação e sistemas de água indevidamente limpos (Dimopoulos et al., 2012; Paramythiotou et al., 2014). Outros veículos implicados na transmissão destes fungos nos hospitais incluem manutenção deficiente dos filtros de ar, contaminação do material de isolamento, fugas de água e humidades nas paredes e tetos, e obras de construção dentro ou nos arredores do hospital (Pemán & Salavert, 2013). Os esporos destes fungos podem dispersar-se facilmente no ar e conseguem sobreviver em diferentes condições ambientais (Garcia-Vidal & Carratalà, 2012). Peláez et al. (2012), desenvolveram um estudo na UCI da cirurgia cardíaca num hospital espanhol, com o objetivo de correlacionar os níveis de conídios de *Aspergillus* no ar com os casos de Aspergilose Invasiva (AI). A principal conclusão que os autores obtiveram foi que “os níveis anormalmente elevados de conídios de *A. fumigatus* no ar estão correlacionados com novos casos de AI, mesmo em doentes que não estavam gravemente imunocomprometidos”. Para além disso, os autores defendem que este trabalho sublinha a importância da monitorização dos esporos de *Aspergillus* nas unidades pós-operatórias, mesmo quando se tratem de doentes imunocompetentes.

A AI é considerada a segunda causa mais comum de IFI, sendo que a incidência desta infeção nas UCI varia entre 0,33% e 6,9% (Oren & Paul, 2014; Dimopoulos et al., 2012). Apesar de as infeções provocadas por *Candida* serem as mais frequentemente

implicadas em IFI, tal como referido anteriormente ao longo dos anos tem-se verificado uma alteração na epidemiologia devido à introdução de profilaxia com fluconazol (Kriengkauykiat et al., 2011; Cáston-Osorio et al., 2008).

A taxa de mortalidade de doentes internados com AI comprovada ou provável nas UCI varia entre 59% e 95% como se pode ver na Figura 2, apesar de mais recentemente um estudo retrospectivo realizado nos EUA por Baddley et al. (2013) demonstrar uma diminuição desta taxa para cerca de 46%. Os autores defendem que esta diminuição se pode dever à terapêutica antifúngica disponível e à sua utilização precoce, às técnicas de diagnóstico disponíveis mais precisas e aos avanços tecnológicos nas UCI.

As IFI provocadas por *Aspergillus* têm demonstrado serem mais severas do que as candidoses. Num estudo prospetivo conduzido de Maio 2006 a Abril de 2008 em 38 UCI em 27 hospitais italianos, as taxas de mortalidade devido a infeções provocadas por estes fungos foram significativamente mais elevadas do que as taxas de mortalidade por candidose (63% vs 44%) (Tortorano et al., 2011).

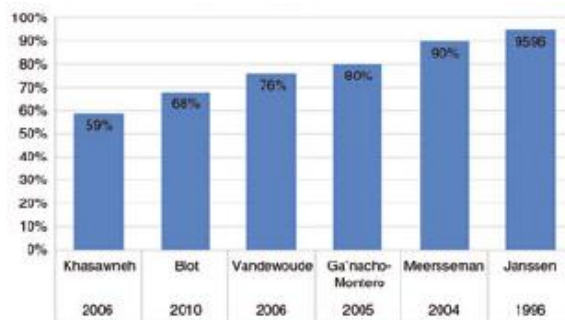


Figura 2: Taxa de mortalidade comprovada ou provável de aspergilose invasiva nas UCI (Adaptado de Dimopoulos et al., 2012)

Patogénese e Fatores de virulência

A capacidade de esporulação destes fungos varia desde 1 a 100 esporos/mm³ no ar, o que faz com que a via respiratória seja uma das principais vias de entrada no organismo. Outra das razões para as infeções ocorrerem principalmente ao nível do pulmão pretende-se com o facto de os conídios serem a forma de infeção destes fungos, e como o seu diâmetro é muito pequeno (2-3µm) atingem facilmente os alvéolos pulmonares por inalação (Walsh & Rex, 2002). Por norma, este fungo não provoca infeções em indivíduos imunocompetentes pois o sistema imunológico possui a capacidade de eliminar os conídios, no entanto em indivíduos imunocomprometidos é muito comum a progressão para IFI. O anexo 2 sumariza a patogénese da AI.

Os fatores de virulência de *A. fumigatus* incluem a produção de melanina que funciona como antioxidante e protege o fungo da radiação ultravioleta, das temperaturas extremas e da lise enzimática, a produção e secreção de enzimas hidrolíticas como serina, protease, fosfolipases entre outras que facilitam a colonização do pulmão e de outros tecidos, e a produção de toxinas principalmente da gliotoxina que inibe a fagocitose e induz a apoptose dos macrófagos. Outros fatores que contribuem para a virulência são a termotolerância uma vez que este fungo possui a capacidade de crescer a altas temperaturas (37-50°C), e a ligação a diferentes proteínas do hospedeiro como sejam fibrinogênio, imunoglobulinas, laminina entre outros (Karkowska-Kuleta et al., 2009; Garcia-Vidal & Carratalà, 2012).

Manifestações clínicas

As infecções pulmonares como a aspergilose pulmonar invasiva (API), aspergilose bronco-pulmonar alérgica (ABPA), traqueobronquite, sinusite, necrose local com cavitação e micetoma são a principal forma de manifestação clínica. Estes fungos podem também atingir o cérebro, provocando convulsões, hemorragias intracranianas, meningite e infartos cerebrais (Walsh & Rex, 2002; Paramythiotou et al., 2014).

Das várias manifestações enumeradas anteriormente, a API é a mais preocupante pois para além de ser muito devastadora, a sua frequência tem vindo a aumentar nos últimos anos (Dimopoulos et al., 2012). Esta doença caracteriza-se pelo crescimento de filamentos no parênquima pulmonar, angioinvasão, trombose intravascular, infarto do tecido e ocasionalmente disseminação hematogénica (Ben-Ami, Lewis & Kontoyiannis, 2010). Os sinais e sintomas clínicos incluem febre, hemoptises, tosse e dor torácica pleurítica, o que quer dizer que não são específicos e raramente estão presentes em simultâneo (Kriengkauykiat et al., 2011).

Fatores de risco

A neutropenia é o fator de risco mais relevante para API uma vez que os neutrófilos e os macrófagos alveolares são as defesas mais importantes do organismo contra *Aspergillus*. Outros fatores predisponentes para doença provocada por estes fungos são transplantes de órgãos sólidos, VIH/SIDA, tratamento prolongado com corticosteroides sistémicos e inalados, doenças hematológicas malignas, *sepsis* grave, cirrose, queimaduras graves, cirurgia cardíaca prévia, IR aguda e doença pulmonar obstrutiva

cronica (DPOC) (Dimopoulos et al., 2012; Paramythiotou et al., 2014). Também a terapêutica com ganciclovir, um antivírico utilizado para infeções provocadas por CMV tem sido descrita como fator de risco para o desenvolvimento de AI (Castón-Osorio et al., 2008; Kriengkauykiat et al., 2011).

Em 2010, Dutkiewicz & Hage propuseram uma classificação dos fatores de risco em três níveis, alto risco, risco intermédio e baixo risco (Tabela 6) para os doentes internados nas UCI.

Tabela 6: Estratificação dos fatores de risco para aspergilose, nos doentes internados nas UCI (Adaptado de Dutkiewicz & Hage, 2010)

Alto Risco	<ul style="list-style-type: none"> • Neutropenia (<500 neutrófilos/mm^3) • Neoplasias hematológicas • Transplante alogénico de células-tronco hematopoiéticas
Risco Intermédio	<ul style="list-style-type: none"> • Tratamento com corticosteroides antes admissão UCI • Transplante autólogo de células-tronco hematopoiéticas • DPOC • Cirrose hepática • Cancro dos órgãos sólidos • Infecção por VIH • Transplante de pulmão • Terapêutica imunossupressora sistémica
Baixo Risco	<ul style="list-style-type: none"> • Queimaduras graves • Transplante de órgãos sólidos • Tratamento com esteroides < 7 dias • Estadia prolongada na UCI (>21 dias) • Malnutrição • Cirurgia pós-cardíaca

A predisposição genética e os fatores ambientais também têm sido estudados como possíveis fatores de risco. Ao nível da genética verificou-se por exemplo que polimorfismos no fator de necrose tumoral (TNF, abreviatura em inglês para *tumour necrosis factor*) – α e nos recetores do tipo toll (TLRs, abreviatura em inglês para *Toll-like receptors*) estão associados a risco aumentado de AI (Cunha, Aversa, Romani & Carvalho, 2013). Para além destes, a produção elevada de interleucina 10 (IL-10) também tem sido associada. No que diz respeito a fatores ambientais, tem sido descrito que os transplantes que ocorrem fora dos quartos com fluxo laminar têm risco acrescido de infeção por *Aspergillus* e que os meses de verão são mais propícios para ocorrência de AI (Kriengkauykiat et al, 2011).

4.3 *Mucolares* spp.

Epidemiologia

Os fungos desta ordem são responsáveis por uma infecção fúngica cada vez mais comum, a mucormicose e pertencem à classe dos Zigomicetes, juntamente com a ordem *Entomophthorales* sendo que esta última raramente está implicada em doenças invasivas nos humanos e geralmente está limitada aos trópicos e subtropicais (Oren & Paul, 2014). As famílias que fazem parte desta ordem são seis, *Mucoraceae*, *Cunninghamellaceae*, *Mortierellaceae*, *Saksenaceae*, *Syncephalastraceae* e *Thamnidaceae*, e mais recentemente uma sétima família tem sido descrita *Absidiaceae* (Paramythiotou et al., 2014). Dentro destas famílias os géneros *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Absidia*, *Apophysomyces*, *Cunninghamella* e *Saksenaea* são os mais implicados em infeções nos humanos (Castón-Osorio et al., 2008).

Estes fungos são onipresentes na natureza e podem ser encontrados na terra e na matéria orgânica em decomposição (vegetação, fruta e pão). Para que a sua propagação no meio ambiente seja possível, utilizam qualquer substrato com hidratos de carbono para produzir as hifas e os esporangiósporos assexuados. Para além desta característica, são termorresistentes e crescem rapidamente o que faz com que sejam responsáveis pelo desenvolvimento de doenças em humanos (Walsh & Rex, 2002).

Também tem sido descrito que as variações sazonais podem ter influência no desenvolvimento de mucormicoses e que existem diferenças ao nível da epidemiologia destas infeções quer se trate de um país desenvolvido ou em vias de desenvolvimento (Petrikos et al., 2012).

Esta infeção é considerada a terceira IFI mais comum nas UCI (Paramythiotou et al., 2014; Petrikos et al., 2012; Oren & Paul, 2014), apesar de um estudo retrospectivo realizado entre Janeiro de 1989 e Agosto de 2008, com base em autópsias demonstrar um aumento das mucormicoses em relação às infeções provocadas por *Aspergillus* devido à profilaxia com voriconazol e equinocandinas que não são ativas contra Zigomicetes (Lewis et al., 2013).

Quanto à taxa de mortalidade após a análise de 230 casos de zigomicose entre 2005 e 2007, o Grupo de Trabalho sobre a zigomicose da Confederação Europeia de Micologia Médica releva que este valor ronda os 47%. Este trabalho revelou também que das

diferentes manifestações da zygomycose (descritas mais à frente nas manifestações clínicas), a doença disseminada apresentou a maior taxa de mortalidade seguida dos doentes com zygomycose pulmonar (Skiada et al., 2011).

Patogénese e Fatores de virulência

A porta de entrada é principalmente por via aérea. Num indivíduo saudável os macrófagos têm um papel importante na prevenção deste tipo de infeções uma vez que são responsáveis pela fagocitose e morte oxidativa dos esporos. Quando estas células não conseguem desempenhar estas funções, os esporos não são removidos e acabam por germinar em hifas que por sua vez causam invasão local e destruição tecidual. Para além dos macrófagos, também os neutrófilos e os monócitos possuem características de defesa contra a mucormicose (Walsh & Rex, 2002).

Os fatores de virulência dos *Mucorales* incluem a produção de adesinas que promovem a adesão dos fungos a células endoteliais específicas, a produção de enzimas proteolíticas, lipolíticas e glicosídicas bem como metabolitos como alcaloides ou micotoxinas como a agroclavina. A aquisição de ferro e a termotolerância também têm sido descritos como fatores importantes para a patogénese destes fungos (Morace & Borghi, 2011; Kontoyiannis et al., 2012a).

Manifestações clínicas

A mucormicose pode ser classificada em seis formas *major* consoante as apresentações clínicas e o local anatómico afetado pelo fungo. Assim divide-se em rinocerebral, pulmonar, cutânea, GI, disseminada e em formas incomuns como sejam endocardite, osteomielite, peritonite e pielonefrite. De todas estas formas de infeção, a rinocerebral tem sido descrita como a mais comum em doentes com diabetes *mellitus* e a pulmonar em doentes com neoplasias hematológicas (Figura 3). A necrose do tecido resultante da invasão vascular pelo fungo e a consequente trombose é a principal característica clínica deste tipo de infeção (Walsh & Rex, 2002; Skiada et al., 2011; Petrikos et al., 2012).

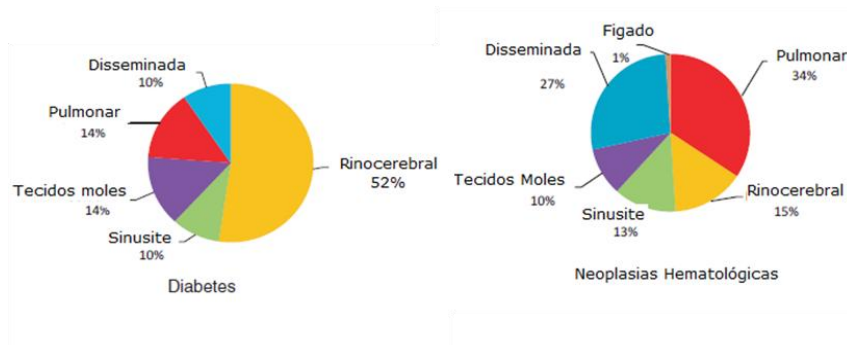


Figura 3: Locais de infecção em relação à doença de base (Diabetes e Neoplasias Hematológicas) (Adaptado de Skiada et al., 2011)

Fatores de risco

As principais condições que predis põem a mucormicose são as doenças hematológicas malignas como a leucemia mieloide aguda e a neutropenia prolongada e grave. A diabetes *mellitus* com presença ou não de cetoacidose, terapêutica com desferroxiamina (agente quelante do ferro e do alumínio) principalmente em casos de IR crônica, tratamento prolongado com corticosteroides e grandes traumas provocados por exemplo por acidentes de viação ou desastres naturais são também fatores predisponentes para esta infecção. Outros fatores como sejam desnutrição, utilização de substâncias ilícitas por via intravenosa, prematuridade neonatal, transplantes e cancro de órgãos sólidos, VIH/SIDA têm sido descritos embora menos comuns que os casos referidos acima (Walsh & Rex, 2002; Petrikos et al., 2012; Hong et al., 2013).

Atualmente não existe nenhum sistema de pontuação que permita estratificar o risco de mucormicose, no entanto esforços têm sido realizados nesse sentido. Kontoyiannis et al. (2012a) propuseram os componentes potenciais de um sistema de pontuação para mucormicose, que se baseia nas características dos doentes. A Tabela 7 descreve esses possíveis componentes.

Tabela 7: Componentes potenciais do sistema de Estratificação do risco de mucormicose (Adaptado de Kontoyiannis et al., 2012a)

-Idade (>40 vs <40 anos)	-Controlo de diabetes
-Tipo de transplante de células estaminais hematopoiéticas	Bom
Alogénico	Pobre
Autólogo	-Local da mucormicose
-Recidiva de leucemia	Disseminada
-Intervalo entre diagnóstico e cirurgia	Rinocerebral
Curto (1-7 dias)	Pulmonar multifocal
Intermédio (8-14 dias)	
Tardio (>14 dias)	

4.4 *Cryptococcus* spp

Epidemiologia

Existem cerca de 70 de espécies de *Cryptococcus* conhecidas, no entanto apenas duas são prejudiciais aos humanos e aos animais, *C. neoformans* e *C. gattii* (Arendrup et al., 2014). Antigamente o *C. gattii* era considerado uma variedade do *C. neoformans* mas agora é considerado uma espécie distinta, que se divide em quatro tipos moleculares (VGI, VGII, VGIII e VGIV). O *C. neoformans* por sua vez apresenta duas variedades *C. neoformans* var. *neoformans* e *C. neoformans* var. *grubii* (Pappas, 2013). A distribuição do *C. neoformans* é mundial e sabe-se que esta espécie consegue sobreviver durante um longo período de tempo protegido do sol e das elevadas temperaturas nos excrementos de pássaros devido aos seus fatores de virulência como veremos mais adiante. Até há pouco tempo pensava-se que o *C. gattii* se restringia a zonas tropicais e subtropicais principalmente em áreas onde existem muitos eucaliptos e coalas (Binder & Lass- Flörl, 2011), no entanto na última década tem-se verificado um aumento de infeções por esta espécie na Europa. Hagen et al. (2012), investigaram a ocorrência de *C. gattii* na Europa e se a infeção tinha origem dentro ou fora deste continente. Concluíram com o seu trabalho que o *C. gattii* é emergente na Europa e que a maioria das infeções (60%) foi adquirida fora deste continente, demonstrando que este fungo pode causar infeções depois de estar latente durante muitos anos.

As leveduras do género *Cryptococcus* são a segunda causa de IFI por leveduras, depois das espécies de *Candida* (Pemán, Zaragoza & Salavert, 2013; Castón-Osorio et al., 2008). Estes fungos afetam principalmente os doentes VIH/SIDA, sendo que apresentam um risco de infeção bastante superior aos doentes sem infeção por este vírus (2.9-13.3% vs 0.2-0.9%) (Binder & Lass- Flörl, 2011). Cerca de 1 milhão de casos de meningite criptocócica ocorrem anualmente a nível global em doentes infetados com VIH, sendo mais incidente na África Subsariana (Park et al., 2009). Recentemente Marukutira et al. (2014) realizaram um estudo com o objetivo de caracterizar a epidemiologia, diagnóstico, tratamento e resultados das IFI em doentes com VIH/SIDA. Os resultados revelaram que dos 6845 doentes registados no *Prospective Antifungal Therapy* (PATH) *Alliance* (base de dados com informações acerca da epidemiologia, diagnóstico, tratamento e resultados das IFI no Norte da América), 303 (4.4%) estavam

infetados com VIH e que *Cryptococcus* era o agente etiológico responsável por 50% das IFI nestes doentes.

As infeções provocadas por estas leveduras se não receberem tratamento são fatais, principalmente as provocadas por *C. neoformans* e mesmo as que recebem, devido à dificuldade em matar o fungo apresentam taxas de mortalidade bastante elevadas (30-40%) (Binder & Lass-Flörl, 2011). Por outro lado, as taxas de mortalidade associadas a *C. gattii* são muito baixas (Pemán & Salavert, 2013). Estima-se que globalmente ocorram 625 000 mortes por ano devido a meningite criptocócica em doentes portadores do VIH (Park et al., 2009).

Patogénese e Fatores de virulência

A patogénese da criptococose não está totalmente compreendida mas sabe-se que o pulmão é a principal via de entrada do fungo no organismo. Quando o fungo é inalado, sob a forma de basidiósporos ou levedura pode causar infeção pulmonar e posteriormente através do trato respiratório disseminar dentro do organismo, atingido preferencialmente o SNC provocando meningoencefalite (Figura 4) (Karkowska-Kuleta et al., 2009; Li & Mody, 2010).

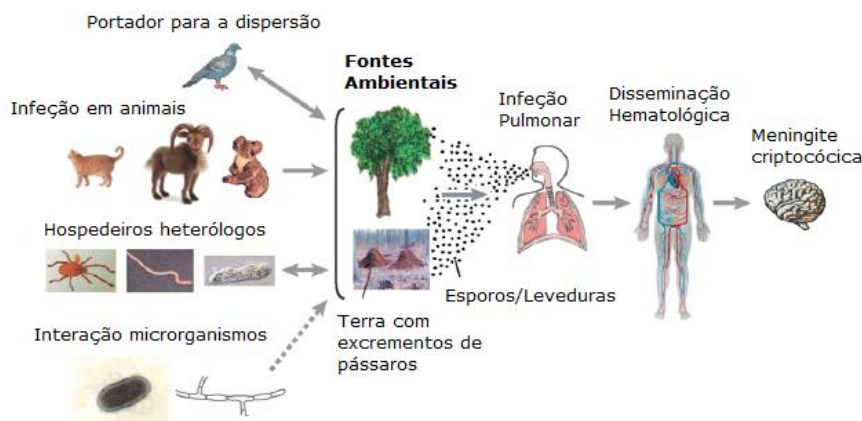


Figura 4: Distribuição do *Cryptococcus* no meio ambiente e sua patogénese (Adaptado de Li & Mody, 2010)

Entre os vários fatores de virulência do *Cryptococcus*, a cápsula polissacárida é considerada o fator *major* uma vez que funciona como escudo contra a fagocitose e possui a capacidade de matar os neutrófilos, monócitos e macrófagos bem como inibe a migração dos leucócitos ao local da inflamação. Outra função da cápsula é a proteção do fungo contra condições adversas do meio ambiente, por exemplo temperaturas elevadas. A produção de melanina é outro fator que auxilia contra a radiação violeta, temperaturas extremas e outras condições ambientais. No interior do organismo

funciona como antioxidante e é responsável pela integridade da parede celular. Outros fatores de virulência incluem a produção de manitol, a produção de enzimas hidrolíticas como proteases e fosfolipases, produção de eicosanóides como prostaglandinas e leucotrienos, a capacidade de crescer a 37°C, produção de urease e o *switching* fenotípico (Karkowska-Kuleta et al., 2009; Li & Mody, 2010).

Manifestações clínicas

As manifestações clínicas podem variar de assintomática ou tosse, a febre, pneumonia, meningoencefalite, disseminação para diferentes locais do corpo ou mesmo morte dependendo do local e da gravidade da infecção e do estado de saúde do doente. A meningoencefalite é a manifestação mais importante e mais comum da criptococose, sendo que os sinais mais vulgares são febre e dor de cabeça o que quer dizer que não são específicos. Outros sinais incluem meningismo (rigidez da nuca, fotobolia, dor de cabeça), papiledema, paralisia dos nervos faciais, outros défices neurológicos focais e nível reduzido de consciência. Em casos mais graves pode ocorrer aumento da pressão intracraniana provocando perda visual e auricular profunda, e pode mesmo chegar a coma e morte (Li & Mody, 2010; Bicanic & Harrison, 2014).

Tal como referido supra o pulmão é a principal via de entrada desta levedura, então a criptococose pulmonar pode surgir de uma inalação recente ou pode ser uma reativação de uma infecção latente que é o que acontece na maioria dos casos. A criptococose pulmonar pode variar entre assintomática a tosse e febre ou pode vir a desenvolver pneumonia (Perfect et al., 2010).

Outras manifestações mais raras incluem criptococose cutânea que se apresenta sob a forma de lesões ulceradas e criptococose disseminada a vários órgãos como sejam fígado, pâncreas, próstata, trato urinário, olhos, miocárdio, ossos e articulações (Li & Mody, 2010).

Fatores de risco

Os fatores de risco mais significantes para o desenvolvimento de IFI por *Cryptococcus* incluem os doentes portadores de VIH/SIDA, os doentes recetores de transplantes de órgãos sólidos ou que fazem terapêutica com imunossupressores (por exemplo corticosteroides) e os doentes com neoplasias hematológicas. Outros fatores predisponentes, embora menos comuns abrangem esplenectomia (remoção do baço),

glomerulonefrite, cirrose, fascíte necrosante, *Mycobacterium tuberculosis*, gravidez, sarcoidose e IR (Li & Mody, 2010, Pappas, 2013).

Embora mais relacionadas com as infeções provocadas por *C. gattii*, a pneumonia e outras condições pulmonares tais como enfisema, bronquite crónica e DPOC têm sido associadas como fatores de risco para a infeção (MacDougall, Fyfe, Romney, Starr & Galanis, 2011).

5. Diagnóstico micológico

As IFI representam um grande encargo financeiro para os hospitais não só devido aos gastos com a terapêutica antifúngica mas também aos custos com as longas estadias nas UCI e utilização de mais recursos hospitalares (Ashley, s.d.). Nos tempos de crise que atravessamos o diagnóstico precoce é fundamental para escolher a terapêutica apropriada a cada doente e assim evitar a utilização desnecessária de antibióticos por exemplo. Mais importante que os gastos é o facto do doente poder não sobreviver ou a terapêutica antifúngica não ser eficaz devido à demora na identificação da espécie.

O diagnóstico laboratorial constitui um dos passos mais importantes para o tratamento das IFI, uma vez que os sintomas descritos pelos doentes não são suficientes para distinguir uma infeção fúngica de uma infeção bacteriana por exemplo. Embora ainda sejam o padrão para o diagnóstico das IFI, os métodos tradicionais apresentam inúmeras desvantagens à sua utilização. Assim nos últimos anos houve uma necessidade crescente de explorar outras metodologias para melhorar a precisão do diagnóstico.

5.1 Métodos tradicionais

Na generalidade o principal problema destas metodologias é que para além de serem pouco sensíveis, são técnicas invasivas que por vezes não podem ser utilizadas em doentes nas UCI pois estes já se encontram bastante debilitados, e que levam algum tempo a demonstrar resultados. Apesar de todas estas desvantagens atualmente servem como base fundamental para o diagnóstico de IFI. Dentro deste grupo incluem-se a microscopia direta, a cultura, a histopatologia e a radiologia.

- **Microscopia direta**

Existem diferentes tipos de coloração que podem ser utilizados para a identificação de fungos por microscopia direta, destacam-se a coloração Gram, a Giemsa, a Tinta da China e a utilização de hidróxido de potássio com *calcofluor white*. Este último

constituente que funciona como agente clareador liga-se à quitina presente na parede dos fungos permitindo assim uma detecção rápida e sensível de elementos fúngicos (Alexander & Pfaller, 2006).

Através da microscopia direta podem observar-se as características morfológicas dos fungos e estabelecer-se um diagnóstico presumível mas não identificar o agente etiológico de forma definitiva, pois algumas estruturas podem ser visualizadas em diferentes tipos de fungos. As características morfológicas dos diferentes tipos de fungos encontram-se na Tabela 8. Apesar de esta metodologia ser rápida, de baixo custo e permitir um diagnóstico genérico a sensibilidade e precisão são muito limitadas e um resultado negativo não pode descartar uma infeção fúngica (Alexander & Pfaller, 2006; Ostrosky-Zeichner, 2012).

Tabela 8: Aspetos microscópicos característicos de fungos patogénicos e oportunistas em amostras clínicas (Adaptado de Alexander & Pfaller, 2006)

Fungo	Características morfológicas observadas por microscopia em amostras clínicas
<i>Candida</i>	Levedura oval com divisão por gemulação e com 2-6µm de diâmetro. Pseudohifas e hifas verdadeiras podem estar presentes.
<i>Aspergillus</i>	Hifas hialinas, septadas, ramificadas dicotomicamente de largura uniforme (3-6µm). As cabeças dos conídios podem ser visualizadas nas lesões.
<i>Zygomycetes</i>	Hifas largas, de paredes finas, cenocíticas com 6-25µm de largura, com os lados não paralelos e ramificações aleatórias.
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	Células de levedura grandes (8-15µm em diâmetro), de paredes espessas com brotamento. A junção entre as células mãe e filha é tipicamente de base ampla. As células podem aparecer multinucleadas.
<i>Histoplasma capsulatum</i>	Leveduras pequenas (2-4µm de diâmetro), intracelulares em divisão.
<i>Penicillium marneffei</i>	Oval, as células de levedura intracelulares bifurcadas com um septo (levedura de fissão).
<i>Coccidioides immitis/posadasii</i>	Esféricas, esférulas de parede espessa, 20-30 µm de diâmetro. Esférulas maduras contêm pequenos endósporos (2-5µm de diâmetro). Endósporos libertados podem ser confundidos com leveduras. Artroconídios e hifas podem formar-se em lesões cavitárias.
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Levedura esférica em divisão por gemulação, de tamanho variável, 2-15µm de diâmetro. Cápsula pode estar presente ou não. Não apresenta hifas ou pseudohifas.

• Cultura

Embora outros métodos tenham sido desenvolvidos posteriormente aos meios de cultura, este continua a ser o método de eleição para o diagnóstico de IFI. Em relação à microscopia direta que vimos anteriormente, este processo é um pouco mais preciso e específico apesar de ainda estar aquém de outros métodos desenvolvidos posteriormente, e para além disso como já é utilizado há algum tempo constitui também uma vantagem. Exemplos de meios de cultura comumente utilizados para identificação

e crescimento de fungos temos Sabouraud Dextrose Agar (SDA), os meios cromogénicos (por exemplo CHROMagar utilizado para distinguir as espécies de *Candida*), meio de Czapek-Dox e o Corn Meal Agar (CMA) (Chandrasekar, 2009; Ramana et al., 2013).

Os fungos têm um tempo de vida mais prolongado que a maior parte das bactérias, o que faz com que demorem algum tempo a crescer nos meios de cultura. Por exemplo as culturas para identificação de *Candida* demoram normalmente 24 a 72 horas, o que pode levar a atrasos no diagnóstico e consequentemente atrasos no início da terapêutica antifúngica (Ostrosky-Zeichner, 2012). Para além desta desvantagem, a colheita das amostras é um processo invasivo principalmente no caso de amostras estéreis, podendo em muitos doentes não ser possível proceder à mesma, por exemplo no caso de doentes com hipoxia e/ou trombocitopenia. Outro dos problemas das culturas prende-se com o facto de não ser possível distinguir entre colonização ou contaminação pelo fungo e verdadeira infeção, principalmente quando as amostras utilizadas não são estéreis. Também podem ser obtidos falsos negativos, por exemplo as hemoculturas podem apresentar-se negativas mesmo quando está presente doença disseminada. Tem-se tentado contornar estes aspetos negativos com melhorias nos meios de cultura existentes e formulações de novos, utilização de centrifugação de lise, hemocultura automatizada e sistemas de monitorização continua como exemplos Bactec (Becton Dickinson) e BacT/Alert (bioMérieux) (Ashley, s.d.; Alexander & Pfaller, 2006; Chandrasekar, 2009; Perfect, 2013).

- **Histopatologia**

Tal como os meios de cultura, trata-se de um método invasivo pois as amostras utilizadas para análise são tecidos e mais uma vez isso pode não ser possível de recolher em doentes com trombocitopenia devido ao risco elevado de complicações hemorrágicas. Esta metodologia não pode ser utilizada isoladamente para a identificação de fungos devido às semelhanças nas características morfológicas dos vários agentes patogénicos, por exemplo no caso do *Aspergillus* e *Fusarium* as hifas são difíceis de distinguir em biopsias de tecidos. Também têm sido feitos progressos nesta área e técnicas de coloração com base na ligação do agente fluorescente-anticorpo ao antigénio têm sido testadas embora atualmente não existam disponíveis comercialmente para identificação de fungos (Alexander & Pfaller, 2006; Perfect, 2013).

Embora apresente as desvantagens descritas anteriormente, este processo permite visualizar diretamente os fungos patogênicos e caso as amostras sejam recolhidas de um local estéril, a presença de infecção pode ser provada (Chandrasekar, 2009).

Os métodos histopatológicos utilizados para identificação de fungos passam por microscopia com recurso a colorações especiais, imunofluorescência direta e hibridação *in situ*. Em relação à microscopia, a coloração Fontana-Masson é utilizada para diferenciar *C. neoformans* pois cora a melanina presente na parede celular que só esta levedura tem a particularidade de apresentar. Outras colorações como a coloração de prata Gomori e a coloração com ácido periódico Schiff também são utilizadas para identificação histopatológica de fungos (Alexander & Pfaller, 2006).

- **Radiologia**

Dentro dos métodos tradicionais, a radiologia é o único processo não invasivo o que constitui uma vantagem. Outro aspeto positivo é que apresenta alto valor preditivo para o diagnóstico de infeções pulmonares. Para além disto, a radiologia permite visualizar características distintas indicativas da fase da infeção (Chandrasekar, 2009).

A tomografia computadorizada (TC) de alta resolução é frequentemente utilizada para auxiliar o diagnóstico de API, o problema é que não permite distinguir entre aspergilose pulmonar e zigomicose pois ambas as patologias se caracterizam por nódulos e presença de halo, apresentando assim baixa especificidade. Outros fatores devem ser tidos em conta para facilitar o diagnóstico, como por exemplo a presença de sinusite característica de zigomicose pulmonar (Perfect, 2013).

Mais investigações na área da radiologia para diagnóstico de IFI têm sido realizadas. Hot et al. (2011), num estudo prospetivo demonstraram que a tomografia com emissão de protões com [¹⁸F] fluorodeoxiglucose é capaz de detetar alterações funcionais/metabólicas que refletem a atividade de células inflamatórias antes do aparecimento de alterações anatómicas, avaliadas por métodos radiológicos convencionais. Além disso, revelaram também que este processo pode ser útil para monitorizar a resposta à terapêutica antifúngica.

5.2 Métodos recentes

Face às desvantagens dos métodos tradicionais, novas técnicas foram estudadas e outras já conhecidas aperfeiçoadas para a identificação mais precisa dos agentes etiológicos. Estes novos processos baseiam-se na determinação de antigénios presentes na parede

celular fúngica como os mananos (*Candida*), galactomanano (*Aspergillus*), antígeno criptocócico (*Cryptococcus*) ou 1,3 beta D glucano (pan-fúngico), de anticorpos ou determinação conjunta. Pode-se ainda determinar alguns metabolitos fúngicos como o D-arabinitol. Outras metodologias moleculares, incluem técnicas de amplificação de ácidos nucleicos em tempo real (real time PCR) e hibridação fluorescente *in situ* de ácidos nucleicos peptídicos (PNA FISH). Além destes a Ionização e Desabsorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF) e o dispositivo de fluxo lateral (*Lateral Flow Device*- LFD) também têm sido estudados.

- **Teste galactomanano**

Este teste consiste num imunoensaio enzimático em dupla sandwich que se baseia na deteção de um antígeno (galactomanano). O galactomanano é um polissacarido presente na parede celular das espécies de *Aspergillus* o que faz com que seja seletivo para este tipo de fungos. Uma meta análise realizada em 2006 por Pfeiffer, Fine & Safdar que analisou cerca de 27 estudos revelou que a sensibilidade deste teste é de 71% e a especificidade de 89%. Este polissacarídeo pode ser detetado no soro ou noutros fluidos corporais como o fluido de lavagem broncoalveolar (FLBA), sendo que os resultados de uma revisão sistemática e meta análise realizados por Zou et al. (2012) demonstraram uma maior sensibilidade do teste quando a amostra se trata do FLBA. Outra das vantagens deste teste é a rapidez com que se pode diagnosticar aspergilose em comparação com os métodos tradicionais (Chandrasekar, 2009; Perfect, 2013).

O teste disponível comercialmente é o Platelia *Aspergillus* EIA[®] (Bio-Rad Laboratories, Inc.) que foi aprovado em 2003 pela FDA (*Food and Drug Administration*) nos EUA. Os resultados são medidos em densidade ótica ou em índice de galactomanano, que representa a relação da densidade ótica da amostra em comparação com a densidade ótica de um soro padrão existente no produto (Ostrosky-Zeichner, 2012).

Quanto aos aspetos negativos este método pode apresentar resultados falso positivos devido à utilização de antibióticos β -lactâmicos (por exemplo, piperaciclina-tazobactam ou ácido clavulânico), colonização gastrointestinal por *Bifidobacterium*, presença de outras micoses invasivas (por exemplo *Penicillium*, histoplasmoses ou blastomicose), alimentação entérica com proteína de soja e uso de plasmalite (solução de eletrólitos) (Chandrasekar, 2009; Perfect, 2013). Também podem ocorrer em doentes com mieloma e em recém-nascidos (Morrissey, 2013). Resultados falso negativos também podem ser

obtidos mas neste caso devido a terapêutica antifúngica prévia ou concomitante, ou devido a baixa carga fúngica (Ostrosky-Zeichner, 2012). Para além disto também apresenta baixa sensibilidade e especificidade em doentes que receberam transplantes de órgãos sólidos (Pfeiffer et al., 2006).

Apesar de todas estas desvantagens em 2008 as diretrizes da *Infectious Diseases Society of America* (IDSA) para tratamento da aspergilose, referem que o teste do galactomanano é “um teste adjuvante útil para estabelecer um diagnóstico precoce, especialmente quando usado na triagem de série de pacientes com alto risco de infeção”. No entanto para monitorização da terapêutica em pacientes com aspergilose invasiva o teste de galactomanano continua sob investigação (Walsh et al., 2008).

- **Teste β -D-glucano**

O (1,3) - β - D- glucano é um polissacárido presente na parede celular da maioria dos fungos com exceção de espécies de *Zygomycetes*, espécies de *Cryptococcus* e *Blastomyces dermatitidis* que ou não expressam β -glucano ou expressam-no em pequenas quantidades. Este marcador apesar de inespecífico é sensível para a deteção de IFI, sobretudo a partir de amostras estéreis (Ostrosky-Zeichner, 2012; Theel & Doern, 2013; Perfect, 2013; He et al., 2014).

Este teste consiste num imunoensaio enzimático cromogénico que deteta β - D- glucano através da utilização de amebócitos do caranguejo *Limulus polyphemus*. Estas células contêm componentes da cascata da coagulação do *Limulus*, o fator C e o fator G que são inibidos respetivamente pela bactéria liposaccharide e β - D- glucano. O teste consiste na eliminação do fator C e assim a ativação da cascata da coagulação fica limitada ao β - D- glucano. Aprovado comercialmente nos EUA temos apenas o Fungitell® (Associates of Cape Code, Inc., East Falmouth, MA,USA) apesar de outros como Wako® (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Tokyo, Japan), Fungitec-G® (Seikagaku, Kogyo, Tokyo, Japan), e Maruha® (Maruha-Nichiro, Foods Inc., Tokyo, Japan) já terem sido desenvolvidos (Theel & Doern, 2013).

Tanto a sensibilidade como a especificidade deste teste têm sido referidas como elevadas. Em 2009, num estudo retrospectivo elaborado por Koo, Bryar, Page, Baden & Marty demonstraram que a sensibilidade e especificidade para IFI eram de 64% e 84%, respetivamente. Verificaram também que o teste foi menos sensível em doentes com patologias hematológicas ou que tinham sido sujeitos a transplante de células estaminais

hematopoiéticas. Mais recentemente He et al. (2014), numa revisão sistemática e meta análise de 28 artigos revelaram que a sensibilidade e especificidade para IFI era de 78% e 81% respetivamente, e concluíram que este teste tem uma boa precisão para distinguir doentes com IFI de doentes sem IFI.

Resumindo as vantagens deste método são a deteção de uma grande variedade de IFI (marcador “panfungal”), elevada sensibilidade e especificidade, distinção entre IFI ou não e trata-se de uma metodologia não invasiva. Outros estudos descrevem que a sensibilidade deste teste não foi afetada por terapêutica antifúngica como acontece no teste do galactomanano o que constitui também um fator positivo (Koo et al., 2009; Nguyen et al., 2012). Para além destas vantagens, Hanson et al. (2012) concluíram com o seu trabalho que a “monitorização dos níveis de β -glucano pode ser útil para identificar doentes de alto risco para o desenvolvimento de IFI nas UCI, bem como monitorizar a resposta ao tratamento”.

Como todos os processos, este também apresenta aspetos negativos como sejam a possibilidade de falsos resultados positivos devido a vários fatores. Destacam-se a administração de preparações de imunoglobulina ou albumina contaminadas com componentes de fungos, hemodiálise realizada com membrana de celulose, certos antibióticos (por exemplo piperacilina/tazobactam), administração de frações proteicas de plasma ou fatores de coagulação, medicamentos que contêm glucano, hemólise, presença de infeções bacterianas graves e contacto com gaze cirúrgica (Chandrasekar, 2009; Ostrosky-Zeichner, 2012). Outra desvantagem como já foi mencionado deve-se ao facto de não poder ser usado de forma confiável para diagnóstico de mucormicose e criptococose. Por último, Presterl et al. (2009) demonstrou através de um estudo retrospectivo que os níveis elevados de (1,3) - β - D- glucano dos doentes internados nas UCI, se devem não só a IFI mas também a doenças e condições subjacentes graves e a medidas de terapia intensiva a que os doentes são sujeitos.

Este método também pode ser utilizado em combinação com outros. Posteraro et al. (2011) concluíram com a sua investigação que este método combinado com o *Candida* Score pode melhorar o diagnóstico em doentes na UCI com risco de *sepsis* provocada por *Candida*.

Esta metodologia apesar de não ser económica, ponderando os gastos com o internamento prolongado nas UCI, tem potencial para reduzir significativamente os custos por doente (Theel & Doern, 2013).

- **Teste do manano**

O diagnóstico de infeções por *Candida* também pode ser feito com recurso à pesquisa de anticorpos/antígenos, mais especificamente anticorpo anti-manano e antígeno manano. O manano é um polissacárido que existe na parede celular das espécies *Candida* e que pode aumentar durante uma infeção provocada por este fungo (Ostrosky-Zeichner, 2012). No entanto deve ser realizado o teste pesquisando o antígeno e o anticorpo pois a sensibilidade é superior quando utilizados de forma concomitante. O estudo de caso controlo realizado por Held, Kohlberger, Rappold, Grawitz & Häcker (2013), demonstrou que a sensibilidade utilizando apenas o antígeno ou apenas o anticorpo era de 58.9% e 62.5%, respetivamente, e quando utilizados em conjunto esta aumentou para 89.3% no entanto o mesmo não aconteceu com a especificidade.

- **Teste do antígeno criptocócico**

Durante a infeção por *Cryptococcus*, a deteção do antígeno capsular pode ser realizada nas mais variadas amostras entre as quais sangue, urina e líquido cefalorraquidiano (LCR). O teste padrão consiste na determinação deste antígeno por aglutinação em látex e possui uma sensibilidade de 95% e especificidade de 98%. As vantagens desta metodologia são rapidez e simplicidade de utilização, no entanto pode apresentar resultados falsos-positivos com o fator reumatoide, reação cruzada com *Trichosporon* ou contaminação. Resultados falsos- negativos podem dever-se à presença de imunocomplexos, baixos títulos de antígeno ou a infeção por *Cryptococcus* não encapsulados ou com pouca cápsula (Moretti, Resende, Lazéra, Colombo e Shikanai-Yasuda, 2008).

Depois da aglutinação em látex novos métodos de deteção do antígeno surgiram, como ensaios imunoenzimáticos e mais recentemente o ensaio de fluxo lateral. Este último apresenta vantagens em relação aos anteriores pois não requer pré-tratamento das amostras, não exige equipamento e os resultados são obtidos em menos de 15 minutos (Pelfrey & Bauman, 2012).

McMullan et al. (2012), publicaram um estudo no qual compararam o ensaio de fluxo lateral com o teste de aglutinação em látex, e os resultados demonstraram que o

primeiro apresentou sensibilidade superior (100% vs 91.1%). Para além disso também demonstrou ser mais rápido, mais específico e de menor custo.

- **PCR (*Polymerase Chain Reaction*)**

Os métodos de diagnóstico com base em ácidos nucleicos têm mostrado serem bastante interessantes uma vez que apresentam resultados mais rapidamente do que as metodologias tradicionais. Para além desta vantagem, são métodos não invasivos e altamente sensíveis. Dependendo dos *primers* (sequências iniciadoras) utilizados, pode detetar fungos em geral ou identificar espécies particulares (Perfect, 2013).

Nguyen et al. (2012), no seu trabalho compararam a utilização de PCR com o teste do β - D- glucano e com culturas de sangue para diagnóstico de candidose invasiva. Os resultados demonstraram que a sensibilidade do PCR foi superior à do teste- D- glucano (80% vs 56%), mas que a especificidade obtida foi idêntica (70% vs 73%). Os investigadores verificaram também que as culturas de sangue apresentaram maior sensibilidade quando utilizadas em combinação com os dois métodos do que isoladas. Também foi discutido uma possível vantagem do PCR em relação ao teste do β - D- glucano, assim “O ensaio de PCR utilizado neste estudo foi projetado para distinguir espécies suscetíveis ao fluconazol (*C. albicans* e *C. tropicalis*) de espécies intrinsecamente ou potencialmente resistentes (*C. krusei* e *C. glabrata*) e *C. parapsilosis*, que muitas vezes demonstra reduzida suscetibilidade às equinocandinas”.

Existem disponíveis comercialmente vários testes para identificação e deteção de fungos a partir de material biológico, como exemplos temos o SepsiTest[®] (Molzzy, Alemanha) e o SeptiFast[®] (Roche Molecular Systems, Alemanha) sendo que este último é o mais conhecido e o que tem sido mais estudado em vários trabalhos (Liesenfeld, Lehman, Hunfeld & Kost, 2014).

Quanto a aspetos negativos esta metodologia é propensa a falsos positivos, devido à incapacidade de distinguir colonização de infeção e também à facilidade do PCR para ser contaminado por esporos (Chandrasekar, 2009). O facto de não ser um método padronizado, de ser caro e necessitar de equipamento sofisticado também constituem desvantagens para a sua utilização (White, Parr, Thornton & Barnes, 2013).

- **PNA FISH (*Peptide Nucleic Acid Fluorescence in situ Hybridization*)**

Este método foi desenvolvido para diferenciar *C. albicans* de espécies não- *albicans* em culturas de sangue positivas para leveduras, mais rapidamente do que com métodos

tradicionais (ex. teste do tubo germinativo). Depois de obtida a cultura positiva, as amostras de sangue são sujeitas a uma hibridação *in situ* fluorescente com sondas específicas de ácido peptídico nucleico para identificação de *C. albicans* (cujo alvo é o RNA ribossomal). Ao fim de 2-3h os resultados são obtidos, o que constitui uma vantagem em relação aos métodos tradicionais que demorariam 24-72h ou mais (Chandrasekar, 2009).

O trabalho de Harris & Hata (2013) demonstra que o PNA FISH apresenta alta precisão para identificação de *Candida* (94.1%), que é de fácil utilização em laboratório clínico e em termos económicos é uma metodologia mais em conta do que os microarrays ou MALDI-TOF.

O PNA FISH foi aprovado para identificação de bactérias e leveduras nos EUA pela FDA em 2004, e está disponível comercialmente como AdvanDx[®] (Alexander & Pfaller, 2006).

Como é de esperar uma das limitações deste método para diagnóstico de IFI é que só permite a análise de fungos pertencentes ao género *Candida*, assim outras metodologias serão sempre necessárias nas UCI. Outro problema deste processo é necessita de uma concentração de organismo de pelo menos 10^5 ufc/ml para ser possível a deteção do fungo, tornando-se um processo exigente laboratorialmente (Harris & Hata, 2013).

- **Outros**

O D- arabinitol é um metabolito que pode ser pesquisado para diagnóstico de candidose. Este composto é produzido pelas espécies mais patogénicas (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. pseudotropicalis*) não sendo tão notável em *C. glabrata* ou *C. krusei* (Ostrosky-Zeichner, 2012). Yeo et al. (2006), com o seu trabalho concluíram que a determinação do D- arabinitol no soro e na creatinina é um “teste sensível, específico e que permite em tempo oportuno detetar infeção provocada por *Candida*”.

O MALDI-TOF que significa *Matrix Associated Laser Desorption-Ionization - Time of Flight* é um método que alia a espectrometria de massa à microbiologia e necessita de uma base de dados associada para comparar os espectros obtidos com os de referência e assim identificar os microrganismos envolvidos. O material alvo de análise é colocado na matriz polimérica que é irradiada com um laser, provocando vaporização da amostra e ionização das várias moléculas para o detetor. Cada molécula tem o seu tempo de

chegada ao detetor (*time of flight*), que é depois inserido num gráfico bem como a quantidade, o que fornece vários picos obtendo-se assim um gráfico diferente para cada espécie (Pasternak, 2012). Este método pode ser utilizado para micobactérias, bactérias, leveduras e *Aspergillus* e as amostras para análise podem ser colónias ou um concentrado obtido da hemocultura. Bille et al. (2012), concluíram com o seu trabalho que o MALDI-TOF associado à base de dados Andromas é método que “permite uma identificação muito rápida, barata, e eficiente de todos os microrganismos isolados em condições de rotina em laboratórios de microbiologia, qualquer que seja o meio de cultura utilizado”. Estes autores também referem que este método é cinco vezes menos caro que as galerias bioquímicas, mesmo incluindo os custos de aquisição e a manutenção bianual. De acordo com Pasternak (2012), a desvantagem desta metodologia prende-se com o facto de as bases de dados relativas a fungos serem privadas ao contrário das bases de dados de ácidos nucleicos que são públicas e de uso livre. Outro problema do MALDI-TOF é que permite apenas identificação a partir da amostra biológica e não deteção. Para efetuar *in vitro* a susceptibilidade aos antifúngicos este método ainda está em desenvolvimento.

Recentemente também surgiu outro método de diagnóstico de IFI, o *Lateral-Flow Device* (LFD) que significa dispositivo de fluxo lateral. Apesar de ser mais aplicado para o diagnóstico de *Aspergillus*, também é possível a identificação de outros fungos, bactérias e vírus incluindo VIH. Esta metodologia imunocromatográfica utiliza um anticorpo monoclonal (JF5) que se liga a um antígeno presente na glicoproteína extracelular, libertado durante o crescimento de *Aspergillus*. Na Figura 5, são visíveis os resultados típicos deste teste, sendo que para ser considerado positivo a banda correspondente à primeira imagem tem que ser bem definida. Este anticorpo é altamente específico e não apresenta reação cruzada com *Candida*, *Fusarium*, espécies de *Scedosporium* ou agentes responsáveis por mucormicose. Os aspetos positivos do LFD são a rapidez com que os resultados são obtidos (10-15 minutos), a sua fácil utilização e o processamento mínimo de amostras. A principal limitação deste teste é a interpretação dos resultados que é feita de forma qualitativa e subjetiva e isso pode levar a resultados incorretos (White et al., 2013; Wiederhold et al., 2013).

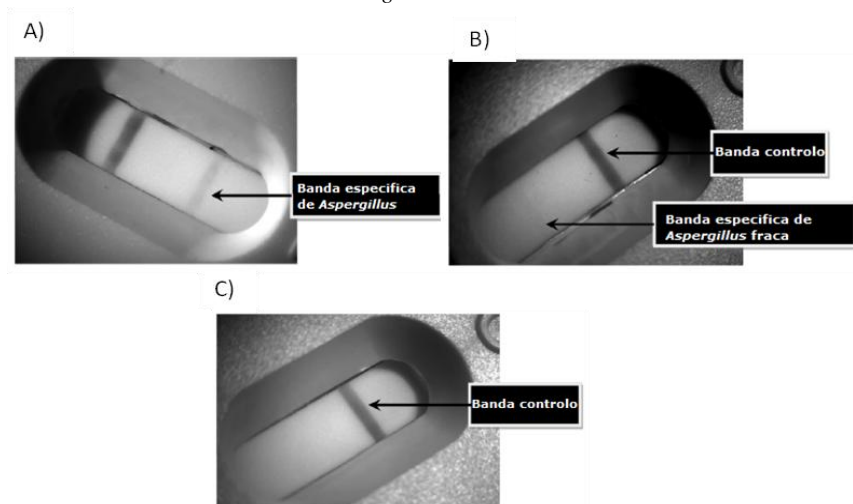


Figura 5: Resultados típicos do *Lateral Flow Device* (Adaptado de White, Parr, Thornton & Barnes, 2013)

Legenda: A) Fortemente positivo; B) Fracamente positivo; C) Negativo

5.3 Diagnóstico específico para cada agente etiológico

O conhecimento do agente etiológico responsável pela IFI é um fator muito importante para que o tratamento correto seja direcionado a este pois como veremos posteriormente nem todos os fungos respondem da mesma forma aos diferentes antifúngicos existentes. A deteção do fungo em cultura ou num tecido com lesão histopatológica permite determinar o diagnóstico como definitivo para fungos e leveduras, mas nem todas as metodologias existentes servem para identificação de todos os fungos como já discutido. A Tabela 9 resume as técnicas de diagnóstico que podem ser utilizadas para os quatro principais agentes etiológicos responsáveis por IFI nas UCI.

Tabela 9: Métodos de diagnóstico para os quatro principais agentes etiológicos responsáveis por IFI nas UCI (Adaptado de Paramythiotou et al., 2014; Avni, Leibovici & Paul, 2011; Gago, Esteban, Valero, Zaragoza, de la Bellacasa & Buitrago, 2014)

Método de diagnóstico	<i>Aspergillus</i>	<i>Mucorales</i>	<i>Candida</i>	<i>Cryptococcus</i>
Histopatologia	Diagnóstico definitivo	Diagnóstico definitivo	Diagnóstico definitivo	Diagnóstico definitivo
Radiologia	Resultados não específicos	Resultados não específicos	Resultados não específicos	Resultados não específicos
Hemocultura	Extremamente raro	Extremamente raro	Diagnóstico definitivo	Extremamente raro
Culturas de amostras respiratórias	Sen: 10%-80%	Sen: 67% Esp: 100% (FLBA)	Extremamente raro	Elevada sensibilidade
PCR no sangue/FLBA	Sen: 67%-100% Esp: 55%-95%	Sen: 40%-90% Esp: 100%	Sen: 95% Esp: 92%	Sen: 90.7% Esp: 100%
Galactomanano	Sens: 71% (LBA 88%) Esp: 89% (LBA 86%)	Em investigação	Não	Não
(1→3) - β- D- glucano	Marcador “panfungal”	Não	Marcador “panfungal”	Não recomendado

Legenda: FLBA- fluido de lavagem broncoalveolar

6. Tratamento

Embora nos últimos anos várias investigações tenham sido realizadas ao nível dos agentes antifúngicos de forma a melhorar o tratamento das IFI, muitos dos problemas continuam a persistir. Destes destacam-se a emergência de novas espécies de fungos patogénicas, o diagnóstico microbiológico lento, a biodisponibilidade variável do fármaco, a toxicidade, a falta de preparações orais ou intravenosas, a interação medicamentosa significativa para alguns agentes e desenvolvimento de resistência ou infeções inovadoras (Falci & Pasqualotto, 2013).

Os diferentes fármacos antifúngicos disponíveis variam entre si no espectro de atividade, nas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas, nas indicações, na segurança, nos custos e na facilidade de uso ou conveniência. Assim, todos estes fatores têm que ser ponderados na escolha do agente antifúngico pois atualmente não existe nenhum antifúngico ideal (o anexo 3 descreve as características do fármaco antifúngico “ideal”) (Kontoyiannis, 2012b).

Como vimos o tratamento das IFI é difícil, então para além da investigação de novos agentes e vacinas outras estratégias têm sido estudadas. A combinação de tratamentos (por exemplo voriconazol e caspofungina) como veremos mais em pormenor é uma delas apesar de ainda não constar nas *guidelines* atuais. Outras abordagens incluem o tratamento profilático, o tratamento preventivo e o tratamento empírico.

6.1 Fármacos antifúngicos

Hoje em dia as classes de antifúngicos existentes para o tratamento de IFI são três e incluem os polienos (Anfotericina B e 3 formulações lipídicas deste composto), os azóis (Fluconazol, Itraconazol, Voriconazol e Posaconazol) e as equinocandinas (Caspofungina, Micafungina e Anidulafungina). Embora alguns autores considerem também a flucitosina como agente antifúngico (Kontoyiannis, 2012b; Paramythiotou et al., 2014), devido à sua capacidade para criar resistências e elevada toxicidade sobre a medula óssea a sua utilização tem diminuído progressivamente (Infarmed, 2006). Na Figura 6 é possível visualizar na célula fúngica o mecanismo de ação de cada classe de fármacos.

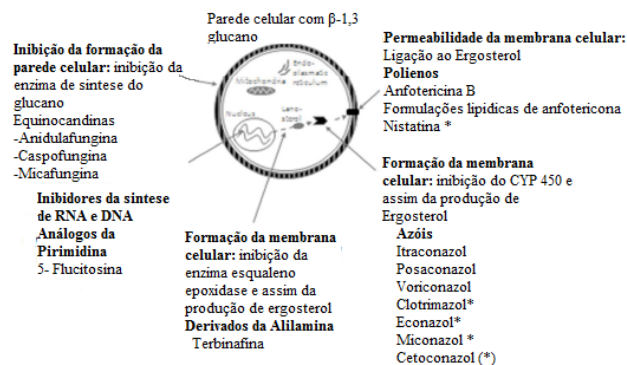


Figura 6: Local alvo na célula fúngica para as diferentes classes de antifúngicos (Adaptado de Arendrup, 2013)

Legenda: Fármacos com * significa que são utilizados apenas para tratamento tópico. Fármacos com (*) significa que são utilizados para tratamento tópico e sistêmico

• Polienos

Os polienos são a classe de agentes antifúngicos mais antiga sendo que a anfotericina B foi durante muitos anos o único fármaco pertencente a este grupo. Estes compostos são isolados a partir de *Streptomyces* spp e atuam por ligação aos esteroides, principalmente ao ergosterol na membrana da célula fúngica. Esta ligação resulta na formação de poros na membrana e consequentemente há perda de integridade celular, que provoca um aumento do efluxo de iões. Todos estes fatores contribuem para a perda de permeabilidade membranar, e a célula acaba por morrer tendo por isso um efeito fungicida (Chandrasekar, 2011).

O principal problema na utilização de anfotericina B convencional prende-se com as reações adversas relacionadas com a perfusão (calafrios, febre, tremores, hipotensão e reações alérgicas) e a nefrotoxicidade. Assim face à necessidade de ultrapassar estas dificuldades, surgiram três formulações lipídicas de anfotericina B, a anfotericina B lipossômica (Ambisone[®]), o complexo lípido de anfotericina B (Abelcet[®]) e a dispersão coloidal de anfotericina B (Amphocil[®]). Estas formulações lipídicas apresentam menos toxicidade renal e os efeitos secundários relacionadas com a perfusão também são menos frequentes (Tragiannidis, Tsoulas, Kerl & Groll, 2013).

Uma estratégia que tem sido utilizada para combater ou minimizar as reações relacionadas com a perfusão é a pré-medicação com paracetamol, difenidramina e meperidina (Ito, Kriengkauykiat, Dadwal, Arfons & Lazarus, 2010).

Para além da nefrotoxicidade e dos problemas relacionados com a perfusão, outras reações adversas dos polienos têm sido mencionadas como sejam, tromboflebite local,

náuseas, vômitos, anemia, elevação transitória das transaminases hepáticas e insuficiência hepática aguda (Miceli & Chandrasekar, 2012). Distúrbios neurológicos e anormalidades ao nível dos eletrólitos também têm sido descritos (Kontoyiannis, 2012b).

Quanto a interações medicamentosas, a anfotericina B apresenta efeito sinérgico com outros medicamentos que apresentem efeito nefrotóxico, então a utilização concomitante destes fármacos é desaconselhada. Exemplos de fármacos nefrotóxicos temos aminoglicosídeos, cisplatina, ciclosporina, vancomicina, pentamidina, colistina entre outros (Almeida, 2013). Outras interações descritas incluem os corticosteroides, a corticotropina e os diuréticos por poderem potenciar a hipocaliémia e os digitálicos e relaxantes musculares por poderem ser potenciados pela hipocaliémia (INFARMED, 2012a). As formulações lipídicas necessitam de mais estudos ao nível das interações com outros fármacos.

Quanto às propriedades farmacocinéticas, a anfotericina B não é bem absorvida ao nível do trato gastrointestinal o que faz com que só estejam disponíveis comercialmente formulações intravenosas. Este fármaco apresenta elevada ligação às proteínas plasmáticas e distribui-se no rim, fígado, baço, pleura, pericárdio, peritoneu e fluido sinovial. Em relação à metabolização mais estudos são necessários e a eliminação é feita de forma lenta (Almeida, 2013).

O espectro de ação é comparável entre a anfotericina B e as formulações lipídicas. São ativos contra espécies de *Candida*, *C. neoformans*, maioria das espécies de *Aspergillus*, *Fusarium* spp., e *Zygomycetes* (Figura 7) (Chandrasekar, 2011).

Espécies de Fungos		Agente Antifúngico							
		AMB	FLC	ITC	VRC	POS	CAS	MFN	ANI
Leveduras	<i>C. albicans</i>	■	■	■	■	■	■	■	■
	<i>C. tropicalis</i>	■	■	■	■	■	■	■	■
	<i>C. parapsilosis</i>	■	■	■	■	■	■	■	■
	<i>C. krusei</i>	■	■	■	■	■	■	■	■
	<i>C. glabrata</i>	■	■	■	■	■	■	■	■
	<i>C. neoformans</i>	■	■	■	■	■	■	■	■
Bolores	<i>A. fumigatus</i>	■	■	■	■	■	■	■	■
	<i>Zygomycetes</i>	■	■	■	■	■	■	■	■
	<i>Fusarium</i> spp.	■	■	■	■	■	■	■	■
	<i>Scedosporium</i> spp.	■	■	■	■	■	■	■	■

■ Activo contra o fungo patogénico
 ■ Actividade parcial contra fungo patogénico

Figura 7: Espectro de atividade dos fármacos antifúngicos

Legenda: AMB- Anfotericina B, FLC- Fluconazol; ITC- Itraconazol; VRC- Voriconazol; POS- Posaconazol; CAS- Caspofungina; MFN- Micafungina; ANI- Anidulafungina

As três formulações lipídicas estão disponíveis em Portugal embora com indicações ligeiramente diferentes entre si. Na Tabela 10 é possível observar o ano de Autorização de Introdução no Mercado (AIM), bem como as indicações terapêuticas aprovadas para estas formulações.

Tabela 10: Indicações terapêuticas e ano de AIM das formulações lipídicas de anfotericina B disponíveis em Portugal (Adaptado de INFARMED, 2012a; INFARMED, 2009; INFARMED 2007a)

Fármaco	Ano de AIM	Indicações Terapêuticas
Anfotericina B lipossómica (Ambisone®)	1992	→ Tratamento de micoses sistémicas graves → Tratamento empírico de micoses em doentes com febre e neutropenia → Terapêutica primária da leishmaniose visceral
Complexo lipídico (Abelcet®)	1996	→ Tratamento de infeções sistémicas por <i>Candida</i> → Tratamento meningite criptocócica em doentes com SIDA → Tratamento de infeções fúngicas sistémicas graves (IR, contraindicação anfotericina B convencional)
Dispersão coloidal (Amphocil®)	1996	→ Tratamento de micoses sistémicas graves e/ou profundas (IR e toxicidade excluem a anfotericina B convencional)

Legenda: SIDA- síndrome da imunodeficiência adquirida; IR- insuficiência renal.

Os mecanismos de resistência dos polienos são raros em leveduras, no entanto em fungos filamentosos podem ocorrer por alterações na membrana, acumulação de outros esteroides ou por aumento da atividade da enzima catalase resultando na diminuição do fármaco no alvo terapêutico (Pfaller, 2012).

O principal fator limitante para a utilização das formulações lipídicas é o seu alto custo quando comparadas com a anfotericina B convencional, uma vez que entre si os valores são semelhantes (Almeida, 2013).

• Triazóis

Os triazóis tal como os imidazóis são agentes antifúngicos que pertencem ao grupo dos azóis e que diferem entre si no número de átomos de azoto. Enquanto os imidazóis são mais utilizados para infeções fúngicas superficiais, os triazóis são mais aplicados em IFI. A primeira geração de triazóis inclui o fluconazol e o itraconazol que estão disponíveis há mais de duas décadas para o tratamento de infeções fúngicas (Figura 8), e a segunda geração o voriconazol e o posaconazol. Para além destes outros três agentes mais recentes têm sido investigados, o isavuconazol, o ravuconazol e o albaconazol (Tragiannidis et al., 2013).

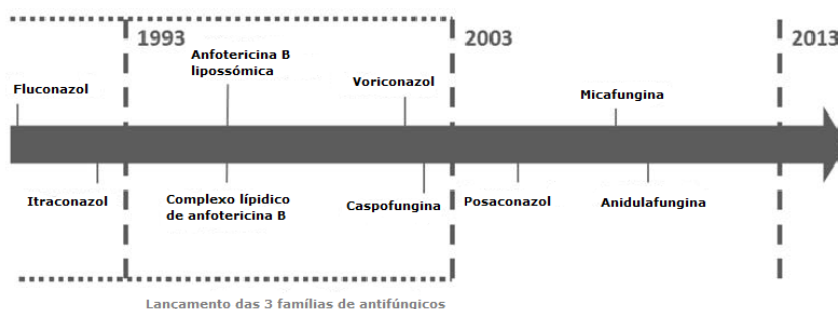


Figura 8: Evolução do desenvolvimento de agentes antifúngicos ao longo do tempo (Adaptado de Vallejo et al., 2013)

O mecanismo de ação destes fármacos consiste na inibição do citocromo P-450 (CYP450) fúngico, mais especificamente da enzima lanosterol 14 alfa-demetilase, o que faz com que não haja conversão do lanosterol em ergosterol. O ergosterol é o principal componente da membrana celular fúngica essencial para a integridade da mesma, se a sua produção for inibida ocorre uma alteração na permeabilidade da célula fúngica (Tragiannidis et al., 2013).

Quanto ao espectro de ação é possível ver na Figura 7, que em geral os triazóis são ativos contra várias espécies de *Candida* (com exceção da *C. glabrata*), *Cryptococcus* e *Aspergillus*. É possível verificar também que o fluconazol não tem atividade para fungos filamentosos como sejam *Aspergillus* e *Zygomycetes*, nem para *C. krusei*. Para espécies de *Zygomycetes*, apenas o posaconazol apresenta eficácia clínica. No caso de espécies menos comuns como sejam *Fusarium* spp. e *Scedosporium* spp., os triazóis de segunda geração (voriconazol e posaconazol) são os únicos fármacos que apresentam atividade antifúngica (Ito et al., 2010). Os três triazóis mais recentes apresentam todos atividade *in vitro* contra fungos do género *Candida*, *Aspergillus* e *Cryptococcus* (Tragiannidis et al., 2013). O isavuconazol apresenta também alguma atividade contra agentes responsáveis por mucormicose (Falci & Pasqualotto, 2013).

O principal problema dos compostos azólicos quer ao nível da segurança quer ao nível das interações medicamentosas deve-se à sua falta de especificidade para a célula fúngica. Estes compostos também atuam ao nível das enzimas do CYP450 responsáveis pela produção de colesterol nas células dos mamíferos, embora os derivados azólicos mais recentes sejam mais específicos para a célula fúngica. Outra das desvantagens destes fármacos é a sua atividade fungistática em vez de fungicida (Moreira, 2010).

As interações medicamentosas mais comuns destes agentes antifúngicos são com fármacos metabolizados através do CYP450. Assim fármacos como as estatinas,

corticosteroides, bloqueadores da entrada de cálcio, imunossupressores, antirretrovirais e certos fármacos quimioterapêuticos requerem ajuste da dose. Dos triazóis disponíveis, o voriconazol é que apresenta a maioria das interações fármaco- fármaco seguido do itraconazol e depois o posaconazol enquanto o fluconazol é o que apresenta menos (Ito et al., 2010; Kontoyiannis, 2012b).

Todos os triazóis estão disponíveis em formulação oral. A biodisponibilidade tal como se pode ver na Tabela 11 é elevada para praticamente todos os fármacos deste grupo, bem como a ligação às proteínas plasmáticas e o volume de distribuição (com exceção do fluconazol) (Falci & Pasqualotto, 2013). O metabolismo dos triazóis é realizado essencialmente a nível hepático, com exceção do fluconazol que é eliminado 80% na forma inalterada na urina (INFARMED, 2011a). É de salientar a importância da inexistência de interações do isavuconazol com os alimentos, pois todos os outros triazóis são afetados pela comida (Falci & Pasqualotto, 2013).

Tabela 11: Propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas dos antifúngicos azólicos (Adaptado de Falci & Pasqualotto, 2013)

Características	ISA	VOR	ITC	POS	FLC
Formulações	Oral e IV	Oral e IV	Oral	Oral	Oral e IV
Biodisponibilidade	Muito alta	>95%	Cápsulas 30% Solução 50%	Não aplicável	95%
Ligação PP	98%	58%	>99%	99%	10%
Efeito da alimentação	Sem efeito	Efeito negativo	Cápsulas- Positivo Solução- Negativo	Efeito positivo	Efeito negativo
Volume de distribuição (L/kg)	Elevado (4.4-7.7)	Elevado (4.6)	Muito elevado (10.7)	Elevado (6.5)	Baixo (0.7)
Penetração SNC	Baixa FCE, e elevada cérebro	Elevada (>50%)	Baixa (<10%)	Baixa	Elevada (>60%)
Depuração (L/h)	Baixa (1.9-2.8)	Elevada (8.4)	Muito elevada (15.9)	Muito elevada (21.7)	Baixa (102)
T _{1/2} (h)	56-104	6.12	24.30	16-35	24-30
Probabilidade de interações	Moderada	Elevada	Elevada	Moderada	Moderada

Legenda: ISA- Isavuconazol; VOR- Voriconazol; ITR- Itraconazol; POS- Posaconazol; FLC- Fluconazol; PP- proteínas plasmáticas; SNC- sistema nervoso central; T_{1/2}- tempo de semivida; FCE- fluido cérebrospinal

Os compostos azólicos por noma apresentam toxicidade relativamente baixa, sendo considerados fármacos seguros e bem tolerados. As reações adversas mais comumente observadas são o aumento das transaminases hepáticas, prolongamento do intervalo QT, insuficiência adrenal e efeitos GI ligeiros (náuseas, vômitos, diarreia e distensão abdominal) (Ito et al., 2010; Moreira, 2010; Ashley, s.d.). Afeções oculares como fotofobia, visão turva e cromatopsia têm sido associadas muito frequentemente ao voriconazol (INFARMED, 2012b).

Na Tabela 12 pode visualizar-se as indicações aprovadas em Portugal pelo INFARMED para os diferentes triazóis disponíveis, bem como o ano da autorização de introdução no mercado. De salientar que apenas constam as indicações relacionadas com fungos responsáveis por IFI.

Tabela 12: Indicações terapêuticas e ano de AIM dos triazóis disponíveis em Portugal para tratamento IFI (Adaptado de INFARMED, 2011a; INFARMED, 2011b; INFARMED, 2012b; INFARMED, 2010)

Fármaco	Ano de AIM	Indicações terapêuticas
Fluconazol	1988	Tratamento: → Meningite criptocócica → Candidíase invasiva, das mucosas e vaginal → Candidíase oral crónica atrofica Profilaxia: → Recidiva da meningite criptocócica → Recidiva da candidíase orofaríngea ou esofágica em doentes infetados com o VIH → Profilaxia de candidíases em doentes com neutropenia prolongada → Reduzir a incidência da candidíase vaginal recorrente
Itraconazol	1989	→ Candidíase vulvo-vaginal, oral e sistémica → Aspergilose sistémica → Criptococose
Voriconazol	2002	→ Aspergilose invasiva → Candidemia em doentes não neutropénicos → IF graves por <i>Candida</i> resistentes fluconazol
Posaconazol	2005	Tratamento: → AI em doentes refratários a anfotericina B ou itraconazol → Candidíase orofaríngea (1ª linha em doença grave ou imunodeprimidos) Profilaxia: → Doentes em quimioterapia (provável neutropenia prolongada) → Recetores de transplantes de células estaminais hematopoiéticas

Os mecanismos de resistência dos azóis variam consoante as espécies de fungos, assim para *Candida* estão propostos quatro mecanismos de resistência enquanto que no caso de *Aspergillus* estão apenas dois. O primeiro mecanismo de resistência para espécies de *Candida* consiste na indução de bombas de efluxo, o que provoca uma diminuição da

concentração de fármaco no alvo terapêutico (a enzima). Outro processo proposto para a aquisição de resistência baseia-se em mutações pontuais no gene (*ERG11*) que codifica para a enzima alvo. O terceiro processo surge a partir deste, se ocorrer sobre- expressão ou sobre- regulação da enzima alvo modificada. O último mecanismo envolve a formação de percursos alternativos que anulam os efeitos dos azóis ao nível da membrana. No caso dos *Aspergillus* o principal mecanismo de resistência consiste em mutações no gene *Cyp51A*, que provocam alterações na enzima lanosterol 14 alfa-demetilase. O outro processo baseia-se na sobre- regulação das bombas de efluxo e mutações na região promotora do *Cyp51* resultando na sobre- expressão do produto proteico (Pfaller, 2012).

- **Equinocandinas**

As equinocandinas são lipopéptidos semi-sintéticos quimicamente modificados de produtos naturais de fungos, que atuam através da inibição não competitiva da síntese de 1, 3 - β - D- glucano na parede celular dos fungos. A caspofungina é um ácido gordo obtido a partir de um produto da fermentação de *Glarea lozoyensis*, a micafungina um complexo aromático proveniente de *Coleophoma empedri* e a anidulafungina contém uma cadeia lateral de alcoxitrifetil e é obtida de *A. nidulans* (Chen, Slavin & Sorrell, 2011). Apesar de apresentarem estruturas químicas diferentes o espectro de atividade é semelhante, sendo que apresentam atividade significativa para espécies de *Aspergillus* e de *Candida* incluindo as espécies resistentes aos azóis mas para *C. neoformans*, e *Zygomycetes* não apresentam qualquer atividade (Figura 7) (Ito et al., 2010).

Quanto às propriedades farmacocinéticas, as equinocandinas apresentam baixa biodisponibilidade oral sendo que só se encontram disponíveis em formulações intravenosas e todas exibem elevada ligação às proteínas plasmáticas (Tabela 13). Distribuem-se bem nos tecidos incluindo pulmão, fígado e baço mas no olho e no SNC não, provavelmente devido ao elevado peso molecular e à elevada ligação às proteínas. A fração excretada na urina é muito baixa, não necessitando de ajustes em caso de IR (Chen et al., 2011). A caspofungina sofre degradação espontânea convertendo-se num composto de anel aberto, e para além deste processo sofre hidrólise peptídica e N-acetilação (INFARMED, 2011c). A micafungina é metabolizada em vários componentes, o M-1 (forma catecol), o M-2 (forma metoxi de M-1) e o M-5 (hidroxilação na cadeia lateral) no entanto, estes não contribuem para a eficácia global da micafungina e o principal componente encontrado na circulação sistémica é a

micafungina inalterada (INFARMED, 2012c). A anidulafungina ao contrário das restantes equinocandinas não passa por metabolismo hepático, sendo degradada quimicamente de forma lenta num péptido de anel aberto sem atividade antifúngica (INFARMED, 2007b).

Tabela 13: Comparação das propriedades major e dos parâmetros farmacocinéticos das equinocandinas nos adultos (Adaptado de Chen, Slavin & Sorrell, 2011)

Variáveis	Caspofungina	Micafungina	Anidulafungina
C_{max} (mg/L) (50 mg dose única)	7.64	4.95	2.07-3.5
Biodisponibilidade	<10%	<10%	2-7%
T_{1/2} (h)	9-11	11-17	24-26
Vd (L/kg)	0.14	0.22-0.24	0.5
Ligação proteínas	96-97%	99.8%	>99%
Depuração	0.15	0.185	0.26
Fração excretada urina inalterada (%)	1.4	0.7	<1
Eliminação	35% fezes, 41% urina, 1.4% inalterada	40% fezes, < 15% urina	Principalmente fezes (<10% inalterada), 1% urina
Penetração FCE (% plasma)	Baixa	Baixa	<0.1%

Legenda: T_{1/2}- Tempo de semivida; Vd- Volume de distribuição; FCE- Fluido cérebroespinal

Em relação à farmacodinâmica importa salientar que as equinocandinas apresentam atividade fungicida dependente da concentração para espécies de *Candida*, e que a atividade nestas espécies é definida com base na concentração mínima inibitória (CMI). No caso de *Aspergillus*, a atividade das equinocandinas é fungistática concentração-dependente mas neste caso a atividade é definida com base na concentração mínima efetiva (CME) (Pound, Townsend & Drew, 2010).

As equinocandinas não são substratos, nem inibem ou induzem (ou apenas fracamente) as enzimas do CYP450 e também não são substratos do sistema de transporte da glicoproteína P no intestino ou nos tecidos, daí que apresentem poucas interações com outros fármacos. A micafungina é a única que tem algum efeito (embora fraco) ao nível do CYP3A4, tendo-se verificado um aumento na exposição do sirolimus e da nifedipina (INFARMED, 2012c). No caso da caspofungina, os inibidores ou os indutores do metabolismo hepático provocam um aumento ligeiro da clearance desta equinocandina, nomeadamente fármacos como a rifampicina, fenitoina, efavirenz, carbamazepina e dexametasona (Chen et al., 2011). A anidulafungina não apresenta qualquer interação com as enzimas do CYP450 e não necessita de qualquer ajuste de dose (INFARMED, 2007b).

Tal como já mencionado, as equinocandinas atuam ao nível do 1, 3 - β - D- glucano, um constituinte exclusivo da parede celular dos fungos e não das células de mamíferos, o que faz com que os efeitos adversos sejam mínimos (Ito et al., 2010). Quando ocorrem devem-se principalmente à perfusão do fármaco e pode observar-se rubor, urticaria, broncospasma, inchaço facial e prurido (Chen et al., 2011). No caso da caspofungina e da micafungina foram relatados aumento nos valores hepáticos (INFAMED 2011c, 2012b). Em doentes a receber micafungina, a função renal deve ser devidamente monitorizada pois este fármaco pode causar problemas renais, incluindo falha renal (INFARMED, 2012c).

As equinocandinas não surgiram todas na mesma altura (como se pode ver na Figura 8) e apresentam diferentes indicações entre si. A caspofungina foi a primeira a ser aprovada na União Europeia (UE) em 2001, sendo depois renovada a AIM em 2006. Este fármaco é utilizado para o tratamento da candidíase invasiva, para o tratamento de aspergilose invasiva em doentes refratários ou intolerantes à anfotericina B, formulações lipídicas de anfotericina B e/ou itraconazol e para o tratamento empírico de presumíveis infeções fúngicas em caso de neutropenia febril (INFARMED, 2011c). Importa salientar que pode ser utilizada quer em adultos quer em doentes pediátricos. A FDA também aprovou a sua utilização em casos de candidíase esofágica (Chen et al., 2011). Ao contrário do que aconteceu nos EUA, anidulafungina foi aprovada na UE primeiro do que a micafungina (FDA autorizou a micafungina em 2005 e a anidulafungina em 2006). A anidulafungina obteve AIM em Setembro de 2007, com a indicação para o tratamento da candidíase invasiva em doentes adultos não neutropénicos (INFARMED, 2007b). Nos EUA é também utilizada em casos de candidíase esofágica. Por último, a micafungina em Abril de 2008 obteve a AIM com indicação para tratamento em adultos e crianças (incluindo recém- nascidos) de candidíase invasiva e profilaxia da infeção por *Candida* em doentes submetidos a transplante alogénico de células estaminais hematopoiéticas ou doentes onde é esperada neutropenia (contagem absoluta de neutrófilos < 500 células / μ l) por 10 ou mais dias. No caso dos adultos e adolescentes com idade superior a 16 anos, tem também indicação para o tratamento de candidíase esofágica em doentes para quem a terapêutica intravenosa é apropriada (INFARMED, 2012c).

Existem três mecanismos de resistência propostos para as equinocandinas. O primeiro consiste no desenvolvimento de mutações específicas nos genes *FKS1* e *FKS2* (que

codificam para a subunidade Fks1p da enzima responsável pela síntese do glucano), provocando uma redução na suscetibilidade às equinocandinas. Este mecanismo é observado para espécies de *Candida* e em fungos filamentosos embora os mecanismos de resistência das equinocandinas sejam raros nestes últimos. Os outros mecanismos propostos incluem uma sobre- expressão de uma proteína (a Sbe2p responsável pelo transporte de componentes na parede celular), e um mecanismo de efluxo de fármacos (Holt & Drew, 2011; Pfaller, 2012).

Por último, em relação a resultados económicos é necessário ter em consideração não apenas os custos de aquisição dos fármacos (que no caso das equinocandinas é bastante elevado) mas principalmente o custo- efetividade. Neoh e seus colaboradores (2011), num estudo prospetivo realizado num hospital australiano compararam a relação custo- efetividade do fluconazol com a anidulafungina. Os resultados revelaram que o custo de aquisição da anidulafungina foi superior ao do fluconazol, no entanto a anidulafungina é uma opção custo- efetiva.

6.2 Diretrizes para o tratamento de IFI

Existem inúmeras diretrizes a nível mundial para o tratamento de candidose (Cornely et al., 2012; Kullberg et al., 2011; Pappas et al., 2009; Bow et al., 2010; Ruhnke et al., 2011; Colombo et al., 2013), o mesmo não se verifica com *Cryptococcus* ou com fungos filamentosos como *Aspergillus* e *Zygomycetes*. É possível verificar com base no anexo 4, que as opções de 1ª linha para o tratamento de candidose invasiva em doentes não neutropénicos passam essencialmente por equinocandinas e fluconazol em todas as *guidelines* disponíveis. Em Portugal, as diretrizes em vigor para o tratamento de candidose invasiva são as propostas pela *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* (ESCMID).

Outras recomendações importantes que constam nas *guidelines* são por exemplo a duração da terapêutica que deve ser de 14 dias após a última cultura de sangue positiva e a indicação para remoção de cateteres centrais pois a formação de biofilmes é propícia (Pappas et al., 2009; Bow et al., 2010; Ruhnke et al., 2011).

Para o tratamento da aspergilose existem publicadas apenas as diretrizes IDSA e as propostas pela *Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology* (SEIMC). Ambas referem o voriconazol como tratamento de primeira linha para aspergilose invasiva e que o tratamento combinado não tem evidência suficiente para

ser utilizado como primeira linha. A alternativa proposta pela SEIMC é a anfotericina B lipossômica enquanto a IDSA propõe para além desta, o complexo lipídico de anfotericina B, a caspofungina, a micafungina, o posaconazol ou o itraconazol (Walsh et al., 2008; Fortún et al., 2011). A duração do tratamento não está bem definido mas deve ser no mínimo de 6 a 12 semanas. No caso de lesões que afetem os grandes vasos ou pericárdio ou que causem erosão no espaço pleural ou nas costelas, a ressecção do tecido é descrita como sendo útil. A monitorização da terapêutica é feita com base na avaliação de todos os sinais e sintomas clínicos bem como nas imagens radiológicas obtidas (Walsh et al., 2008).

As *guidelines* ESCMID para tratamento da mucormicose consideram que a cirurgia sempre que possível é recomendada em combinação com terapêutica medicamentosa. O fármaco de primeira linha é a anfotericina B lipossômica e as alternativas são por ordem decrescente de evidência o complexo lipídico de anfotericina B e o posaconazol> formulações lipídicas de anfotericina B mais caspofungina> anfotericina B (Cornely, 2014).

Para o tratamento das infeções provocadas por fungos da espécie *Cryptococcus* as *guidelines* disponíveis são as IDSA e as propostas pelo Grupo do Consenso de criptococose (Brasil). O tratamento de primeira linha, segundo ambas as recomendações para o tratamento da meningite criptocócica em doentes não infetados com VIH consiste na associação da anfotericina B com a flucitosina (Perfect et al., 2010; Moretti et al., 2008).

6.3 Outras opções de tratamento

- **Tratamento profilático**

O tratamento profilático é indicado para doentes de alto risco sem sinais ou sintomas de infeção, cujo objetivo é impedir o desenvolvimento da IFI. Neste grupo de doentes incluem-se os recetores de transplantes de órgãos sólidos e de células estaminais, os doentes internados nas UCI, os doentes a receber quimioterapia com risco de neutropenia grave e os doentes com leucemia mieloide aguda ou síndrome mielodisplásica (Walsh et al., 2008; Pappas et al., 2009). O fluconazol é o fármaco antifúngico de eleição para profilaxia de candidose invasiva em doentes de alto risco nas UCI de acordo com várias *guidelines* disponíveis (Pappas et al., 2009; Cornely et al., 2012), no entanto não se recomenda como profilaxia de rotina em todas as UCI

(Bow et al., 2010). No caso de infecções invasivas provocadas por *Aspergillus*, o posaconazol é o agente de primeira linha para profilaxia e o itraconazol a alternativa com maior grau de evidência (Walsh et al., 2008; Fortún et al., 2011). Para a mucormicose a profilaxia com posaconazol é aconselhada na doença enxerto contra hospedeiro quando se verifica imunossupressão aumentada. Em doentes com imunossupressão grave e com mucormicose prévia, a ressecção cirúrgica e a profilaxia antifúngica são fortemente aconselhadas para prevenir recorrências (Cornely et al., 2014).

- **Tratamento empírico**

O tratamento empírico é aconselhado a doentes de alto risco com sinais clínicos de infecção não específicos (por exemplo, febre que não responde a antibióticos), para os quais nenhum método de diagnóstico confirmou presença de IFI. Apesar das recomendações das diretrizes serem ligeiramente diferentes entre si, o fluconazol e as equinocandinas são os fármacos de primeira linha para a terapêutica empírica quando se suspeita de candidose em doentes não neutropênicos (Pappas et al., 2009; Bow et al., 2010). As *guidelines* IDSA e SEIMC recomendam no caso de aspergilose, uma formulação lipídica de anfotericina B, voriconazol ou com caspofungina para tratamento empírico sendo que para além destes, as IDSA ainda aconselham o itraconazol (Walsh et al., 2008; Fortún et al., 2011). No caso de mucormicose, o tratamento empírico não foi estabelecido sendo preferível o tratamento com base no diagnóstico (Cornely et al., 2014).

- **Tratamento preventivo**

Este tratamento é indicado para doentes de alto risco para infecção fúngica, com evidência clínica ou baseado em resultados positivos de um ou mais testes de diagnóstico (por exemplo, teste do galactomanano ou do β -glucano). Nas diretrizes disponíveis atualmente para tratamento de candidose existem algumas controvérsias quanto à utilização desta opção de tratamento. Enquanto as *guidelines* canadianas não recomendam o tratamento de prevenção, as ESCMID recomendam no caso de doentes nas UCIs com teste β -glucano positivo iniciar terapia com qualquer antifúngico (Bow et al., 2010; Cornely et al., 2012). As outras diretrizes não fazem qualquer referência a este tipo de tratamento (Pappas et al., 2009; Ruhnke, 2011; Colombo et al., 2013).

Hanson et al. (2012), num estudo piloto randomizado avaliaram a utilidade da vigilância do β -D-glucano como guia para a terapêutica de prevenção. Concluíram que este

marcador serológico é útil para identificar pacientes nas UCI com maior risco de desenvolver IFI e para monitorizar a resposta ao tratamento, uma vez que os doentes a receber terapêutica de prevenção apresentaram efeitos significativos nas concentrações deste marcador.

No entanto vários trabalhos comparando este tipo de tratamento com o tratamento empírico têm sido publicados sendo que a maioria defende que o tratamento empírico é mais efetivo a reduzir as IFI. Em 2011 Pagano et al., realizaram um estudo no qual compararam o tratamento empírico com o tratamento preventivo, e demonstraram que os doentes que receberam tratamento empírico apresentaram uma incidência menor de IFI provável/provada quando comparados com os que receberam tratamento preventivo (7.4% vs 23.7%, respetivamente). Cordonnier et al. (2009), num ensaio clínico randomizado também verificaram que as IFI prováveis ou provadas foram mais comuns nos doentes que receberam tratamento preventivo do que nos que receberam tratamento empírico. Estes autores concluíram que uma vantagem do tratamento preventivo é a redução nos custos da terapêutica antifúngica.

6.4 Futuras opções terapêuticas

- **Novos fármacos**

Dos novos agentes antifúngicos em estudo atualmente alguns possuem um mecanismo de ação idêntico aos fármacos já existentes, como sejam por exemplo a enfumafungina e as piperazinil-piridazinonas, enquanto outros apresentam um mecanismo de ação “novo”. Neste grupo incluem-se por exemplo as Parnanfunginas e os inibidores da síntese da enzima leucil-tRNA. A Tabela 14 resume os novos fármacos antifúngicos atualmente em estudo.

Tabela 14: Exemplos de novos fármacos/moléculas em desenvolvimento, bem como o respetivo mecanismo de ação e espectro de atividade

Nome do fármaco/molécula	Mecanismo de ação	Espectro de atividade
Enfumafungina/MK-3118	Inibição da síntese do 1,3- β -D-glucano	<i>Candida</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp.
Piperazinil-piridazinonas	Inibição da síntese do 1,3- β -D-glucano	<i>Candida</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. <i>C. neoformans</i>
D75-4590	Inibição da síntese do β -1,6-glucano	<i>Candida</i> spp.
E1210	Inibição da biossíntese do GPI	<i>Candida</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp.
Parnanfunginas	Inibição da PAP	<i>Candida</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp.
AN2690	Inibição da síntese da leucil-tRNA	<i>Candida</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. <i>C. neoformans</i>
VT-1161, VT-1129, VT-1598 e análogos	Inibição do <i>CYP51</i>	<i>Candida</i> spp.

Legenda: GPI- Glicosilfosfatidilinositol; PAP- Poly-Adenosine Polymerase

A enfumafungina (equinocandina disponível em formulação oral) tal como o seu derivado semissintético MK-3118 (Figura 9) são exemplos de novos fármacos antifúngicos, que atuam através da inibição da síntese do 1,3- β -D-glucano na parede celular (Roemer & Krysan, 2014). No entanto estudos sugerem que o mecanismo de inibição do glucano não é exatamente o mesmo, pois o MK-3118 apresenta atividade *in vitro* contra espécies de *Candida* resistentes às equinocandinas especialmente *C. albicans* e *C. glabrata* (Pfaller, Messer, Motyl, Jones & Castanheira, 2013a; Jiménez-Ortigosa, Paderu, Motyl & Perlin, 2014). O MK-3118 quando testado *in vitro* contra espécies de *Aspergillus*, apresentou atividade potente contra espécies resistentes aos azóis (Pfaller, Messer, Motyl, Jones & Castanheira, 2013b).

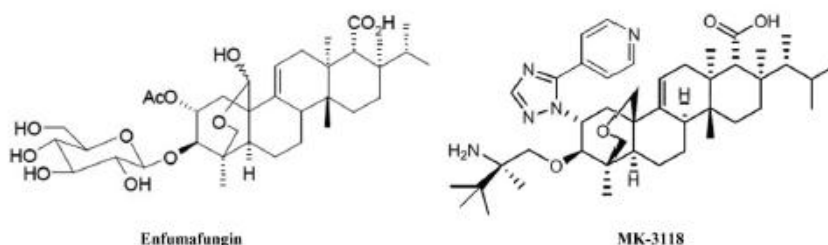


Figura 9: Estruturas da Enfumafungina e seu derivado semissintético MK-3118 (Adaptado de Jiménez-Ortigosa et al., 2014)

Outros agentes antifúngicos em estudo que atuam também na parede celular através da inibição da síntese do glucano são as piperazinil-piridazinonas (SCH A-D, Figura 10). Estes compostos apresentam atividade *in vitro* idêntica à das equinocandinas sendo em

alguns casos até superior e não apresentam resistência cruzada com as equinocandinas. Entre si variam ligeiramente o espectro de atividade mas em geral são ativas contra *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *C. neoformans* e *Fusarium* (Walker et al., 2011).

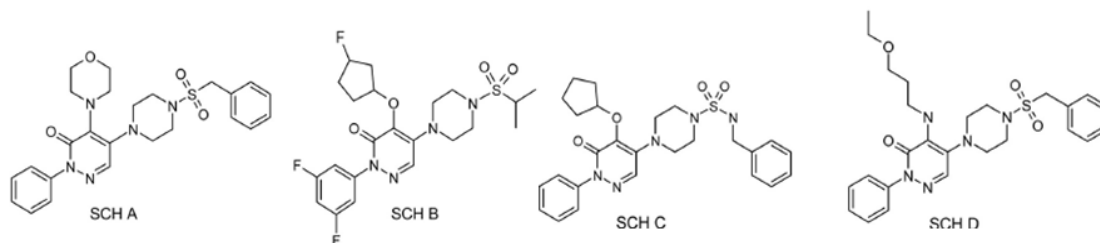


Figura 10: Estrutura química das diferentes piperazinil-piridazinonas (Adaptado de Walker et al., 2011)

Kitamura, Someya, Hata, Nakajima & Takemura (2009), demonstraram que a molécula D75-4590, um derivado do piridobenzimidazole apresenta atividade antifúngica. Este composto atua através da inibição da síntese do β -1,6- glucano na parede celular e o seu espectro de atividade é limitado a espécies de *Candida*. Segundo os autores o problema do D75-4590 é o seu perfil físico-químico não ser ideal para fármaco e não ser promissor em modelos animais.

A molécula E1210 é o primeiro antifúngico oral da classe dos inibidores da biossíntese glicosilfosfatidilinositol (GPI). O GPI é um composto que desempenha um papel importante na síntese da parede celular dos fungos e consequentemente no seu crescimento. O E1210 apresenta atividade dose-dependente contra as principais espécies responsáveis por IFI, *Candida* e *Aspergillus*. Foi também testado em modelos murinos para candidíase disseminada e orofaríngea bem como para aspergilose, mostrando-se efetiva em ambos os casos (Hata et al., 2011).

Outros agentes estudados são as Parnafunginas que atuam através da inibição da polimerase poliadenosina (PAP do inglês *poly-adenosine polymerase*), um componente da clivagem do RNAm e do complexo de poliadenilação (Bills et al., 2009). Apresentam atividade contra espécies de *Candida* e de *Aspergillus* (Roemer & Krysan, 2014).

O AN2690 é outra molécula em estudo que apresenta atividade antifúngica. O seu mecanismo de ação consiste na inibição da síntese da enzima leucil-tRNA, o que bloqueia a síntese de proteínas e consequentemente a célula acaba por morrer (Zhao, Meng, Bai & Zhou, 2014). Apresenta atividade contra espécies de *Candida*, *Aspergillus*

e *C. neoformans* mas é estudada principalmente para tratamento da onicomicose (Roemer & Krysan, 2014).

Outra família de compostos antifúngicos em estudo são os inibidores das metaloenzimas, o VT-1161, VT-1129 e o VT-1598 e seus análogos. Estes fármacos atuam através da inibição do *CYP51* o que faz com que não haja produção de ergosterol. O VT-1161 encontra-se em estudos clínicos de fase 2 em doentes com candidíase vulvovaginal aguda moderada a grave (Viamet, s.d.a). O VT-1598 e os seus análogos demonstram um amplo espectro *in vitro* contra espécies de *Candida*, *Aspergillus* e outras espécies menos comuns e encontram-se em desenvolvimento pré-clínico para encontrar o composto ideal para o tratamento de IFI (Viamet, s.d.b).

A utilização de anticorpos para tratamento de infeções fúngicas tem ganho um papel importante nos últimos anos. O Efungumab (Mycograb[®]) é um anticorpo monoclonal que apresenta atividade antifúngica. Este composto liga-se a uma proteína importante para a formação da parede celular (HSP90- *Heat Shock Protein 90*), o que bloqueia as suas funções normais impedindo o crescimento da célula. Deveria ser usado em combinação com a anfotericina B para o tratamento da candidíase invasiva, no entanto o Comité dos Medicamentos para Uso Humano (CHMP) recusou a AIM. Esta recusa deve-se quer à qualidade do medicamento (formação de agregados na solução injetável) quer a reservas quanto à segurança, pois este medicamento está associado à “síndrome de libertação de citocinas” que se caracteriza por náuseas, vômitos dores e hipertensão (EMA, 2007).

Para tentar contornar estes problemas surgiu o Mycograb C28Y Variant pois pensa-se que a auto- agregação se devia à presença de uma cisteína na posição 28, então procedeu-se à alteração para uma tirosina. No entanto quanto à questão do “síndrome de libertação de citocinas”, o CHMP considera que mais dados de ensaios clínicos controlados são necessários (Bugli et al., 2013).

- **Imunoterapia e vacinas**

Nos últimos anos houve um esforço no sentido de contornar as taxas de mortalidade das IFI com desenvolvimento de novos fármacos e outras medidas, no entanto não se tem mostrado suficiente e novas abordagens como a imunoterapia e vacinação têm sido investigadas (Kriengkauykiat et al., 2011).

A imunoterapia consiste na utilização de agentes biológicos que estimulam o sistema imunitário, sendo que os principais agentes são as citocinas pró-inflamatórias e os fatores de estimulação de colônias (van de Veerdonk, Kullberg & Netea, 2012). As células T helper (Th1 e Th17) desempenham um papel muito importante na proteção do hospedeiro contra a infecção, no entanto os neutrófilos são os elementos chave principalmente nas fases iniciais da infecção (Carvalho, Cunha, Bistoni & Romani, 2012; Safdar, 2013). Para além dos neutrófilos os monócitos, macrófagos, células dendríticas, células killer naturais e as citocinas também participam ativamente na defesa contra fungos patogénicos. Os fatores de crescimento de colónias utilizados são o fator estimulante de colónias de granulócitos pois estimula a proliferação e diferenciação dos neutrófilos e o fator estimulante de colónias de granulócitos-macrófagos pois estimula a hematopoiese de monócitos e neutrófilos e recupera os macrófagos alveolares cuja função foi limitada pela utilização de corticosteroides sistémicos (van de Veerdonk et al., 2012; Safdar, 2013). As citocinas pró-inflamatórias como as interleucinas (IL-1, IL-6, IL-17), o TNF e o interferão- γ (IFN- γ) estimulam a granulopoiese e recrutam neutrófilos para o local da infecção, no entanto TNF e IL-1 apresentam efeitos adversos graves pelo que não são viáveis. Pelo contrário o IFN- γ tem sido utilizado para imunoterapia nas últimas duas décadas e continua a ser estudado (van de Veerdonk et al., 2012).

Delsing et al. (2014) analisaram prospectivamente oito doentes com infecção provocada por *Candida* e/ou *Aspergillus* a receber tratamento com IFN- γ recombinante durante duas semanas. Concluíram que o IFN- γ possui a capacidade de recuperar a função imunitária em doentes com *sepsis* devida a fungos.

No caso de IFI devido a *Cryptococcus*, o IFN- γ também é efetivo. Jarvis et al. (2012), realizaram um ensaio clinico randomizado em doentes com meningite criptocócica associada a VIH para avaliar o efeito da terapêutica adjuvante com IFN- γ . Os autores concluíram que “a adição de curta duração ao tratamento padrão aumentou significativamente a taxa de eliminação da infecção criptocócica no fluido cerebrospinal e não foi associado a qualquer aumento de efeitos adversos”.

Apesar de todos estes avanços nos últimos anos a imunoterapia apresenta muitas limitações. Safdar (2013) considera que “a experiencia clinica com imunoterapia para

IFI é limitada” e que os estudos existentes “envolveram um número pequeno de pacientes numa única instituição e foram recolhidos retrospectivamente”.

O desenvolvimento de vacinas é um processo que enfrenta várias dificuldades como sejam a complexidade dos fungos, uma vez que estes possuem a capacidade de alterar as suas características morfológicas, o seu perfil antigénico e expressar diversos fatores de virulência o que pode levar ao desenvolvimento de estirpes resistentes e mutantes. Outro problema prende-se com a relação fungo- hospedeiro pois os fungos apresentam características moleculares semelhantes às do hospedeiro o que limita os alvos para as vacinas em estudo. Por último mas não menos importante temos o estado de saúde do doente pois os doentes imunodeprimidos (normalmente os mais afetados por IFI) podem agravar o seu estado de saúde com a vacinação (Hamad, 2012).

Apesar das dificuldades referidas anteriormente vários estudos experimentais têm sido publicados sobre moléculas com capacidade de induzir proteção contra fungos (Bromuro et al., 2010; Stuehler et al., 2011; Xin & Cutler, 2011; Luo, Ibrahim, French, Edwards Jr & Fu, 2011; Liu et al., 2011; Liu et al., 2012; Schmidt et al., 2012; Ibrahim et al., 2013; Chow & Casadevall, 2011). A Tabela 15 resume as várias vacinas fúngicas experimentais em estudo.

Tabela 15: Lista provisória das vacinas fúngicas experimentais (Adaptado de Hamad, 2012).

Vacina	Fonte	Fungos alvo	Resposta protetora
Laminarin	β -glucano da alga castanha (<i>Laminaria</i>)	<i>Candida</i> e <i>Aspergillus</i> spp	Anticorpos inibem crescimento do fungo
rAls3p-N	Adesina Als3p N-terminal de <i>C.albicans</i>	<i>C. albicans</i> e múltiplos isolados de <i>S. aureus</i>	IFN- γ /IL-17A mediam atividade dos neutrófilos
Crfl	Glucanase da parede celular do <i>A. fumigatus</i>	<i>Candida</i> e <i>Aspergillus</i> spp	Proteção dependente Th1
Fba	Aldolase frutose-bifosfato, proteína da parede de <i>C. albicans</i>	Múltiplas estirpes de <i>C.albicans</i>	Anticorpos específicos Anti-Fba
rHyr1p-N	Proteína Hyr1 da superfície celular de <i>C.albicans</i>	<i>C. albicans</i> e não <i>albicans</i> spp	Anticorpos neutralizantes Anti-Hyr1p
HKY	Células de <i>S.cerevisiae</i> mortas pelo calor (principalmente glucano)	<i>Aspergillus</i> e <i>Coccidioides</i> spp	Proteção dependente de Th1, anti-glucanos e anti-mananos
Conjugado PA-GaIXM	PA de <i>P. brasiliensis</i> e proteína GaIXM de <i>C. neoformans</i>	<i>C. neoformans</i>	Anticorpos anti- <i>C. neoformans</i>

7. Medidas Preventivas

Como um grande número de IFI surge como consequência de cuidados prestados nas unidades de saúde (Costa-de-Oliveira et al., 2008; Faria-Ramos et al., 2014), a implementação de medidas de prevenção desempenha um papel de grande relevância.

Tal como vimos no capítulo da etiologia, as leveduras, principalmente as espécies de *Candida* apresentam uma patogénese bastante distinta dos fungos filamentosos. Assim, as estratégias de controlo de infeção também devem ser diferentes consoante o tipo de fungo envolvido na IFI. No entanto em ambos os casos, o primeiro passo para a prevenção consiste na identificação dos grupos de maior risco de vir a desenvolver IFI, na identificação dos períodos de maior ameaça e na investigação da epidemiologia dos géneros e espécies de fungos envolvidos, bem como dos seus padrões de resistência (Pemán et al., 2013; Pemán & Salavert, 2013).

Face à patogénese das espécies de *Candida*, as medidas de prevenção prendem-se essencialmente com a higiene das mãos e com prevenção de candidemia relacionada com cateteres intravasculares (Pemán et al., 2013). Em Portugal existe publicada pela Direção Geral de Saúde (DGS), a circular normativa sobre Orientação de Boa Prática para a Higiene das Mãos nas Unidades de Saúde (Direção Geral de Saúde, 2010) e Recomendações para Prevenção da Infeção associada aos Dispositivos Intravasculares. No que diz respeito aos cateteres intravasculares, segundo Pemán & Salavert (2013) são cinco as recomendações a ter em conta. 1) Educar e formar os profissionais que implementam os cateteres e explicar os cuidados de manutenção; 2) Usar o máximo de precauções estéreis durante a inserção de um cateter; 3) Utilizar clorohexidina a 2% como antisséptico da pele; 4) Utilizar de preferência a via subclávia, remover os cateteres vasculares não necessários e evitar colocação de peças de reposição principalmente nos cateteres venosos centrais; e 5) Utilizar cateteres impregnados de antissépticos ou antibióticos no caso de elevadas taxas de infeção nos cateteres. Em relação às infeções por *Candida* de origem endógena, estes autores defendem que “para além das medidas de prevenção expostas em relação aos dispositivos intravasculares, neste caso é determinante a implementação de profilaxia antifúngica”.

No caso de espécies de *Aspergillus* e de outros fungos filamentosos, as IFI são adquiridas principalmente pela inalação de esporos fúngicos. Assim uma das principais medidas a ter em conta para a diminuição da incidência destas infeções passa por um

controlo ambiental adequado que possibilite a diminuição da concentração de esporos no ar (Garcia-Vidal & Carratalà, 2012). A filtração do ar com recurso a filtros *high efficacy particles aerosolized* (HEPA) com 99.97% de eficácia para partículas $\geq 0.3\mu\text{m}$ e com elevado número de renovações de ar por hora (≥ 12 vezes), a sala com pressão positiva (entre +2.5 e +8 Pa) em relação às áreas envolventes, o isolamento físico de portas e janelas da sala, restrições de acesso, a entrada de ar realizada a uma velocidade mínima de 0.25 m/s e a utilização de fluxo laminar unidirecional constituem as principais características que as áreas protegidas devem apresentar (Figura 11). Por áreas protegidas entenda-se locais onde doentes com elevado risco de desenvolver IFI se encontram, por exemplo UCI, salas de operações, unidades de oncologia, unidades de diálise, unidades onde se encontram doentes com VIH entre outros. Estas áreas devem ser limpas com desinfetantes convencionais pelo menos duas vezes por dia e sempre que ocorram derrames acidentais de líquidos, e devem ainda ser sujeitas a uma desinfeção preventiva periódica. O pessoal hospitalar que se encarrega destes doentes deve receber formação específica sobre a epidemiologia, mecanismos de transmissão, e medidas de prevenção e controlo da infeção. Para além disso deve existir um sistema de vigilância e controlo que permita o registo de casos de IFI de forma a detetar aumentos na incidência (Ruiz-Camps et al., 2010).

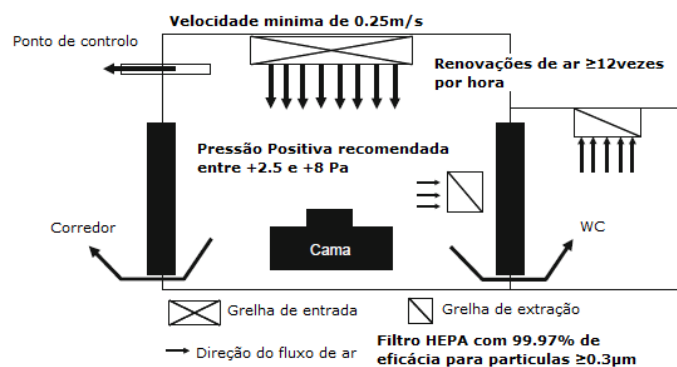


Figura 11: Esquema de uma sala com ambiente protegido (Adaptado de Pemán & Salavert, 2013)

Por fim a SEIMC também recomenda medidas de prevenção fora do hospital para doentes com elevado risco de desenvolver IFI. Assim estes doentes devem evitar zonas de obras, piscinas públicas e áreas onde se realizam trabalhos de jardinagem, os seus objetos de higiene devem ser de uso pessoal e intransmissível, devem evitar o fumo do tabaco, de marijuana e de cannabis, e no caso de terem animais de estimação devem lavar as mãos frequentemente e não devem sentar-se em lugares contaminados com pelos dos animais pois estes podem ser fonte de conídios de fungos filamentosos. No que diz respeito à alimentação estes doentes também apresentam algumas restrições. Não devem comer alimentos crus, frutas com casca, especiarias, produtos lácteos não pasteurizados, tofu, frutos secos e sementes, cervejas não pasteurizadas, e não devem utilizar gelo para refrigerar as bebidas (Ruiz-Camps et al., 2010; Pemán & Salavert, 2013).

Em resumo, as medidas de prevenção a adotar devem ser ponderadas com base nos agentes etiológicos envolvidos uma vez que as vias de transmissão da infeção também diferem. No caso de infeção por *Aspergillus* e outros fungos filamentosos, encontram-se descritas medidas para ambiente hospitalar e para ambientes exteriores.

8. Conclusão

Em suma, os avanços nos cuidados de saúde sobretudo ao nível das UCI contribuíram não só para o aumento do número de doentes imunodeprimidos como também para o aumento da incidência de IFI, que atualmente continuam um problema de saúde global. Entre os vários fatores predisponentes para o desenvolvimento de IFI, nas UCI verificou-se que os mais usualmente envolvidos estão intimamente relacionados com os procedimentos invasivos a que os doentes são sujeitos. Exemplos desses procedimentos são a ventilação mecânica, a utilização de cateter venoso central, a nutrição parental total e a cirurgia.

Em Portugal a incidência das IFI é comparável com os valores apresentados noutros países europeus, enquanto as taxas de mortalidade são ligeiramente inferiores. Quanto à etiologia das IFI nas UCI, as leveduras do género *Candida* spp. e *Cryptococcus* spp. e os fungos filamentosos do género *Aspergillus* spp. e *Mucorales* spp são os principais agentes etiológicos implicados nestas infeções. A epidemiologia sofreu alterações ao longo dos anos, tendo-se constatado um aumento do número de IFI por fungos filamentosos e por espécies não- *albicans*, todavia a espécie *Candida albicans* persiste a causa mais comum de IFI.

O diagnóstico padrão continua a ser realizado com recurso a técnicas tradicionais, como sejam a cultura e a histopatologia. Estas metodologias para além de invasivas, o que limita a sua aplicação em doentes bastante debilitados, são lentas e apresentam baixa sensibilidade e especificidade. Atualmente estão disponíveis uma série de ferramentas não invasivas, mais fáceis de utilizar e mais precisas para diagnóstico, no entanto cada uma apresenta as suas próprias desvantagens.

Em relação ao tratamento, existem disponíveis no mercado três classes de agentes antifúngicos os polienos, os triazóis e as equinocandinas. Estes fármacos diferem entre si no espectro de atividade, nas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas, nas indicações, no perfil de segurança, nos custos e na facilidade de uso ou conveniência. Existem várias diretrizes publicadas para cada agente etiológico responsável por IFI, sendo que em Portugal as que estão em vigor são as da ESCMID. Outras estratégias de tratamento estudadas incluem tratamento profilático, preventivo, empírico ou a combinação de tratamentos, porem não existe um consenso entre as diferentes *guidelines* disponíveis. A enfumafungina/MK-3118, as piperazinil-piridazinonas, as

paranfunginas são exemplos de novos fármacos/moléculas investigados para aumentar o arsenal antifúngico existente. De todos os agentes biológicos utilizados em imunoterapia, o IFN- γ tem-se demonstrado o mais efetivo, apesar de esta prática apresentar experiência clínica limitada. O desenvolvimento de vacinas com capacidade de induzir proteção contra fungos é um processo bastante complicado devido à complexidade dos fungos, à relação fungo-hospedeiro e ao estado de saúde do doente. Apesar de todas estas limitações é considerada uma abordagem bastante promissora.

Por último, a implementação de medidas preventivas é de extrema importância dado que um grande número de IFI é adquirido em unidades de saúde. O farmacêutico hospitalar desempenha um papel preponderante nesta temática, uma vez que é membro da Comissão de Controlo da Infecção.

9. Bibliografia

- Alexander, B. D., & Pfaller, M. A. (2006). Contemporary Tools for the Diagnosis and Management of Invasive Mycoses. *Clinical Infectious Diseases*, 43(S1), S15-S27.
- Almeida, M. V. A. D. (2013). *Anfotericina B e suas formulações lipídicas* (Tese de Mestrado). Universidade Fernando Pessoa- Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, Portugal.
- Arendrup, M. C. (2013). Candida and candidaemia. *Danish Medical Journal*, 60(11).
- Arendrup, M. C., Boekhout, T., Akova, M., Meis, J. F., Cornely, O. A., & Lortholary, O. (2014). ESCMID and ECMM joint clinical guidelines for the diagnosis and management of rare invasive yeast infections. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(s3), 76-98. doi: 10.1111/1469-0691.12360
- Ascioglu, S., Rex, J. H., De Pauw, B., Bennett, J. E., Bille, J., Crokaert, F., ... & Walsh, T. J. (2002). Defining Opportunistic Invasive Fungal Infections in Immunocompromised Patients with Cancer and Hematopoietic Stem Cell Transplants: An International Consensus. *Clinical Infectious Diseases*, 34(1), 7-14. doi: 10.1086/323335
- Ashley, E.S.D. (s.d.). Fungal Infections in the Intensive Care Unit. *Pharmacotherapy Self- Assessment Program*, 7, 61-73. [Acedido em 5 de Fevereiro de 2014]; Disponível em: <http://www.accp.com/docs/bookstore/psap/p7b02sample02.pdf>
- Avni, T., Leibovici, L., & Paul, M. (2011). PCR Diagnosis of Invasive Candidiasis: Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(2), 665-670. doi: 10.1128/JCM.01602-10
- Baddley, J. W., Stephens, J. M., Ji, X., Gao, X., Schlamm, H. T., & Tarallo, M. (2013). Aspergillosis in Intensive Care Unit (ICU) patients: epidemiology and economic outcomes. *BMC Infectious Diseases*, 13(1), 29. doi: 10.1186/1471-2334-13-29

- Bajwa, S. J., & Kulshrestha, A. (2013). Fungal Infections in Intensive Care Unit: Challenges in Diagnosis and Management. *Annals of Medical and Health Sciences Research*, 3(2), 238-244. doi: 10.4103/2141-9248.113669
- Bassetti, M., Mikulska, M., & Viscoli, C. (2010). Bench-to-bedside review: Therapeutic management of invasive candidiasis in the intensive care unit. *Critical Care*, 14(244), 1-12. doi: 10.1186/cc9239
- Ben-Ami, R., Lewis, R. E., & Kontoyiannis, D. P. (2010). Enemy of the (immunosuppressed) state: an update on the pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* infection. *British Journal of Haematology*, 150(4), 406-417. doi: 10.1111/j.1365-2141.2010.08283.x
- Bicanic, T. A., & Harrison, T. S. (2014). Systemic fungal infections. *Medicine*, 42(1), 26-30. doi: 10.1016/j.mpmed.2013.10.006
- Bille, E., Dauphin, B., Leto, J., Bournoux, M. E., Beretti, J. L., Lotz, A., ... & Ferroni, A. (2012). MALDI-TOF MS Andromas strategy for the routine identification of bacteria, mycobacteria, yeasts, *Aspergillus* spp. and positive blood cultures. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(11), 1117-1125. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03688.x
- Binder, U., & Lass-Flörl, C. (2011). Epidemiology of Invasive Fungal Infections in the Mediterranean Area. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*, 3(1), e2011016. doi: 10.4084/MJHID.2011.0016
- Bodro, M., Sabé, N., Gomila, A., Ayats, J., Baliellas, C., Roca, J., ... & Carratalà, J. (2012). Risk Factors, Clinical Characteristics, and Outcomes of Invasive Fungal Infections in Solid Organ Transplant Recipients. *Transplantation Proceedings*, 44(9), 2682-2685. doi: 10.1016/j.transproceed.2012.09.059
- Bouza, E., & Muñoz, P. (2008). Epidemiology of candidemia in intensive care units. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 32(S2), S87-S91. doi: 10.1016/S0924-8579(08)70006-2
- Bow, E. J., Evans, G., Fuller, J., Laverdière, M., Rotstein, C., Rennie, R., ... & Vinh, D. C. (2010). Canadian clinical practice guidelines for invasive candidiasis in

- adults. *The Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology*, 21(4), e122-e150.
- Bromuro, C., Romano, M., Chiani, P., Berti, F., Tontini, M., Proietti, D., ... & Cassone, A. (2010). Beta-glucan-CRM197 conjugates as candidates antifungal vaccines. *Vaccine*, 28(14), 2615-2623. doi:10.1016/j.vaccine.2010.01.012
- Bugli, F., Cacaci, M., Martini, C., Torelli, R., Posteraro, B., Sanguinetti, M., & Paroni Sterbini, F. (2013). Human Monoclonal Antibody-Based Therapy in the Treatment of Invasive Candidiasis. *Journal of Immunology Research*, 2013. doi: 10.1155/2013/403121
- Caggiano, G., Puntillo, F., Coretti, C., Giglio, M., Alicino, I., Manca, F., ... & Montagna, M. T. (2011). Candida colonization index in patients admitted to an ICU. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(10), 7038-7047. doi: 10.3390/ijms12107038
- Carvalho, A., Cunha, C., Bistoni, F., & Romani, L. (2012). Immunotherapy of aspergillosis. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(2), 120-125. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03681.x
- Castón-Orsorio, J. J., Rivero, A., & Torre-Cisneros, J. (2008). Epidemiology of invasive fungal infection. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 32(S2), S103-S109.
- Casucci, I., Provenzani, A., & Polidori, P. (2014). Evaluation of treatment of invasive fungal infections. *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*, 5(1), 47-52. doi: 10.4103/0976-500X.124423
- Chandrasekar, P. (2009). Diagnostic challenges and recent advances in the early management of invasive fungal infections. *European Journal of Haematology*, 84(4), 281-290. doi: 10.1111/j.1600-0609.2009.01391.x
- Chandrasekar, P. (2011). Management of invasive fungal infections: a role for polyenes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66(3), 457-465. doi: 10.1093/jac/dkq479

- Chen, S. C., Slavin, M. A., & Sorrell, T. C. (2011). Echinocandin Antifungal Drugs in Fungal Infections: A comparison. *Drugs*, 71(1), 11-41.
- Chow, S. K., & Casadevall, A. (2011). Evaluation of *Cryptococcus neoformans* galactoxylomannan–protein conjugate as vaccine candidate against murine cryptococcosis. *Vaccine*, 29(10), 1891-1898. doi: 10.1016/j.vaccine.2010.12.134.
- Colombo, A. L., Guimarães, T., Camargo, L. F. A., Richtmann, R., de Queiroz-Telles, F., Salles, M. J. C., ... & Nucci, M. (2013). Brazilian guidelines for the management of candidiasis—a joint meeting report of three medical societies: Sociedade Brasileira de Infectologia, Sociedade Paulista de Infectologia and Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 17(3), 283-312. doi:10.1016/j.bjid.2013.02.001
- Cordonnier, C., Pautas, C., Maury, S., Vekhoff, A., Farhat, H., Suarez, F., ... & Schwaringer, M. (2009). Empirical versus Preemptive Antifungal Therapy for High-Risk, Febrile, Neutropenic Patients: A Randomized, Controlled Trial. *Clinical Infectious Diseases*, 48(8), 1042-1051. doi: 10.1086/597395
- Cornely, O. A., Bassetti, M., Calandra, T., Garbino, J., Kullberg, B. J., Lortholary, O., ... & Ullmann, A. J. (2012). ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: non-neutropenic adult patients. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(s7), 19-37. doi: 10.1111/1469-0691.12039
- Cornely, O. A., Arikan-Akdoglu, S., Dannaoui, E., Groll, A. H., Lagrou, K., Chakrabarti, A., ... & Petrikos, G. (2014). ESCMID and ECMM joint clinical guidelines for the diagnosis and management of mucormycosis 2013. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(s3), 5-26. doi: 10.1111/1469-0691.12371
- Costa-de-Oliveira, S., Pina-Vaz, C., Mendonça, D., & Rodrigues, A. G. (2008). A first Portuguese epidemiological survey of fungaemia in a university hospital. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 27(5), 365-374. doi: 10.1007/s10096-007-0448-4

- Cunha, C., Aversa, F., Romani, L., & Carvalho, A. (2013). Human Genetic Susceptibility to Invasive Aspergillosis. *PLoS Pathogens*, 9(8), e1003434. doi: 10.1371/journal.ppat.1003434
- De Pauw, B. E., Herbrecht, R., & Meunier, F. (2002). Achievements and goals of the EORTC Invasive Fungal Infections Group. *European Journal of Cancer*, 38, 88-93. doi: 10.1016/S0959-8049(01)00460-9
- De Pauw, B., Walsh, T. J., Donnelly, J. P., Stevens, D. A., Edwards, J. E., Calandra, T., ... & Bennett, J. E. (2008). Revised Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clinical Infectious Diseases*, 46(12), 1813-1821. doi: 10.1086/588660
- Delaloye, J., & Calandra, T. (2014). Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient. *Virulence*, 5(1), 161-169. doi: 10.4161/viru.26187
- Delsing, C. E., Gresnigt, M. S., Leentjens, J., Preijers, F., Frager, F. A., Kox, M., ... & Netea, M. G. (2014). Interferon-gamma as adjunctive immunotherapy for invasive fungal infections: a case series. *BMC Infectious Diseases*, 14(166), 1-12. doi: 10.1186/1471-2334-14-166
- Direção Geral de Saúde (2010). Orientação de Boa Prática para a Higiene das Mãos nas Unidades de Saúde. [Acedido em 8 de Outubro de 2014]; Disponível em: <http://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/circular-normativa-n-13dqsd-sd-de-14062010.aspx>
- Direção Geral de Saúde (2012). Prevalência de Infecção Adquirida no Hospital e do Uso de Antimicrobianos nos Hospitais Portugueses. [Acedido em 8 de Outubro de 2014]; Disponível em: <http://www.dgs.pt/documentos-e-publicacoes/inquerito-de-prevalencia-de-infecao-adquirida-no-hospital-e-uso-de-antimicrobianos-nos-hospitais-portugueses-inquerito-2012.aspx>

- Dimopoulos, G., Frantzeskaki, F., Poulakou, G., & Armaganidis, A. (2012). Invasive aspergillosis in the intensive care unit. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1272(1), 31-39. doi: 10.1111/j. 1749-6632.2012.06805.x
- Dutkiewicz, R., & Hage, C. A. (2010). *Aspergillus* Infections in the Critically Ill. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 7(3), 204-209. doi: 10.1513/pats.200906-050AL
- Espinel-Ingroff, A. (1996). History of Medical Mycology in the United States. *Clinical Microbiology Reviews*, 9(2), 235-272.
- European Medicines Agency. Perguntas e respostas relativas à recomendação de recusa do pedido de autorização de introdução no mercado para Mycograb. [Consultado em 22 de Setembro de 2014]; Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/Summary_of_opinion_-_Initial_authorisation/human/000658/WC500070499.pdf
- Falci, D. R., & Pasqualotto, A. C. (2013). Profile of isavuconazole and its potential in the treatment of severe invasive fungal infections. *Infection and Drug Resistance*, 6, 163-174. doi: 10.2147/IDR.S51340
- Faria-Ramos, I., Neves-Maia, J., Ricardo, E., Santos-Antunes, J., Silva, A. T., Costa-de-Oliveira, S., ... & Pina-Vaz, C. (2014). Species distribution and in vitro antifungal susceptibility profiles of yeast isolates from invasive infections during a Portuguese multicenter survey. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 1-7. doi: 10.1007/s10096-014-2194-8
- Fortún, J., Carratalá, J., Gavalda, J., Lizasoain, M., Salavert, M., de la Camara, R., ... & Cuenca-Estrella, M. (2010). [Guidelines for the treatment of invasive fungal disease by *Aspergillus* spp. and other fungi issued by the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology (SEIMC). 2011 Update]. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(6), 435-454. doi: 10.1016/j.eimc.2011.01.010
- Gago, S., Esteban, C., Valero, C., Zaragoza, Ó., de la Bellacasa, J. P., & Buitrago, M. J. (2014). A Multiplex Real-Time PCR Assay for Identification of *Pneumocystis jirovecii*, *Histoplasma capsulatum*, and *Cryptococcus neoformans/Cryptococcus gattii* in Samples from AIDS Patients with

- Opportunistic Pneumonia. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(4), 1168-1176. doi: 10.1128/JCM.02895-13
- Garcia-Vidal, C., & Carratalà, J. (2012). [Pathogenesis of invasive fungal infections]. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 30(3), 151-158. doi: 10.1016/j.eimc.2011.09.011
- Guinea, J. (2014). Global trends in the distribution of *Candida* species causing candidemia. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(S6), 5-10. doi: 10.1111/1469-0691.12539
- Hagen, F., Colom, M. F., Swinne, D., Tintelnot, K., Iatta, R., Montagna, M. T., ... & Boekhout, T. (2012). Autochthonous and Dormant *Cryptococcus gattii* Infections in Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 18(10), 1618-1624. doi:10.3201/eid1810.120068
- Hamad, M. (2012). Universal fungal vaccines. Could there be light at the end of the tunnel? *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 8(12), 1758-1763. doi: 10.4161/hv.21838
- Hanson, K. E., Pfeiffer, C. D., Lease, E. D., Balch, A. H., Zaas, A. K., Perfect, J. R., & Alexander, B. D. (2012). β -D-glucan Surveillance with Preemptive Anidulafungin for Invasive Candidiasis in Intensive Care Unit Patients: A Randomized Pilot Study. *PloS one*, 7(8), e42282. doi: 10.1371/journal.pone.0042282
- Harris, D. M., & Hata, D. J. (2013). Rapid identification of bacteria and *Candida* using PNA-FISH from blood and peritoneal fluid cultures: a retrospective clinical study. *Annals of Clinical Microbiology Antimicrobials*, 12(2).doi: 10.1186/1476-0711-12-2
- Hata, K., Horii, T., Miyazaki, M., Watanabe, N. A., Okubo, M., Sonoda, J., ... & Asada, M. (2011). Efficacy of Oral E1210, a New Broad-Spectrum Antifungal with a Novel Mechanism of Action, in Murine Models of Candidiasis, Aspergillosis, and Fusariosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(10), 4543-4551. doi: 10.1128/AAC.00366-11

- He, S., Hang, J. P., Zhang, L., Wang, F., Zhang, D. C., & Gong, F. H. (2014). A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum 1, 3- β -d-glucan for invasive fungal infection: Focus on cutoff levels. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. doi: 10.1016/j.jmii.2014.06.009
- Held, J., Kohlberger, I., Rappold, E., Grawitz, A. B., & Häcker, G. (2013). Comparison of (1 \rightarrow 3)- β -D-Glucan, Mannan/anti-Mannan-antibodies and Cand-Tec *Candida* Antigen as Serum Biomarkers for Candidemia. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(4), 1158-1164. doi: 10.1128/JCM.02473-12
- Hong, H. L., Lee, Y. M., Kim, T., Lee, J. Y., Chung, Y. S., Kim, M. N., ... & Lee, S. O. (2013). Risk Factors for Mortality in Patients with Invasive Mucormycosis. *Infection & Chemotherapy*, 45(3), 292-298. doi: 10.3947/ic.2013.45.3.292
- Holt, S. L., & Drew, R. H. (2011). Echinocandins: Addressing outstanding questions surrounding treatment of invasive fungal infections. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 68(13), 1207-1220. doi:10.2146/ajhp100456
- Horn, D. L., Neofytos, D., Anaissie, E. J., Fishman, J. A., Steinbach, W. J., Olyaei, A. J., ... & Webster, K. M. (2009). Epidemiology and Outcomes of Candidemia in 2019 Patients: Data from the Prospective Antifungal Therapy Alliance Registry. *Clinical Infectious Diseases*, 48(12), 1695-1703. doi: 10.1086/599039
- Hot, A., Maunoury, C., Poiree, S., Lanternier, F., Viard, J. P., Loulergue, P., ... & Lortholary, O. (2011). Diagnostic contribution of positron emission tomography with [^{18}F] fluorodeoxyglucose for invasive fungal infections. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(3), 409-417. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03301.x
- Ibrahim, A. S., Luo, G., Gebremariam, T., Lee, H., Schmidt, C. S., Hennessey Jr, J. P., ... & Edwards Jr, J. E. (2013). NDV-3 protects mice from vulvovaginal candidiasis through T-and B-cell immune response. *Vaccine*, 31(47), 5549-5556. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.09.016

INFARMED. (2006). Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos. [Acedido em 20 de Agosto de 2014]; Disponível em:

<http://www.infarmed.pt/formulario/formulario.pdf>

INFARMED. (2007a). Resumo das características do Medicamento Amphocil.

[Acedido em 4 de Agosto de 2014]; Disponível em:

http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=360&tipo_doc=rcm

INFARMED. (2007b). Resumo das Características do Medicamento Ecalta 100mg.

[Acedido em 18 de Agosto de 2014]; Disponível em:

http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000788/WC500020673.pdf

INFARMED. (2009). Resumo das Características do Medicamento Abelcet 5mg/ml.

[Acedido em 4 de Agosto de 2014]; Disponível em:

http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=7&tipo_doc=rcm

INFARMED. (2010). Resumo das Características do Medicamento Noxafil 40mg/ml. [Acedido em 14 de Agosto de 2014];Disponível em:

http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000610/WC500037784.pdf

INFARMED. (2011a). Resumo das Características do Medicamento Diflucan.

[Acedido em 14 de Agosto de 2014]; Disponível em:

http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=2577&tipo_doc=rcm

INFARMED. (2011b). Resumo das Características do Medicamento Sporanox 100mg. [Acedido em 14 de Agosto de 2014]; Disponível em:

http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=8063&tipo_doc=rcm

INFARMED. (2011c). Resumo das Características do Medicamento Cancidas 50mg.

[Acedido em 18 de Agosto de 2014]; Disponível em:

http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000379/WC500021033.pdf

INFARMED. (2012a). Resumo das Características do Medicamento Ambisome 50mg. [Acedido em 13 de Agosto de 2014]; Disponível em: http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=291&tipo_doc=rcm

INFARMED. (2012b). Resumo das Características do Medicamento Vfend 50mg. [Acedido em 13 de Agosto de 2014]; Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000387/WC500049756.pdf

INFARMED. (2012c). Resumo das Características do Medicamento Mycamine 50mg. [Acedido em 18 de Agosto de 2014]; Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000734/WC500031075.pdf

Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (2002) Prevenção de infeções Adquiridas no hospital: Um guia prático. [Acedido em 10 de Outubro de 2014]; Disponível em: <http://www.dgs.pt/ms/3/pagina.aspx?codigoms=5514&back=1&codigono=00140018AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA>

Ito, J. I., Kriengkauykiat, J., Dadwal, S. S., Arfons, L. M., & Lazarus, H. M. (2010). Approaches to the early treatment of invasive fungal infection. *Leukemia & Lymphoma*, 51(9), 1623-1631. doi: 10.3109/10428194.2010.496504

Jarvis, J. N., Meintjes, G., Rebe, K., Williams, G. N., Bicanic, T., Williams, A., ... & Harrison, T. S. (2012). Adjunctive interferon- γ immunotherapy for the treatment of HIV-associated cryptococcal meningitis: a randomized controlled trial. *AIDS (London, England)*, 26(9), 1105-1113. doi: 10.1097/QAD.0b013e3283536a93

Jiménez-Ortigosa, C., Paderu, P., Motyl, M. R., & Perlin, D. S. (2014). Enfumafungin Derivative MK-3118 Shows Increased *In Vitro* Potency against Clinical Echinocandin-Resistant *Candida* Species and *Aspergillus* Species Isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(2), 1248-1251. doi: 10.1128/AAC.02145-13

- Karkowska-Kuleta, J., Rapala-Kozik, M., & Kozik, A. (2009). Fungi pathogenic to humans: molecular bases of virulence of *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* and *Aspergillus fumigatus*. *Acta Biochimica Polonica*, 56(2), 211-224.
- Kett, D. H., Azoulay, E., Echeverria, P. M., & Vincent, J. L. (2011). *Candida* bloodstream infections in intensive care units: Analysis of the extended prevalence of infection in intensive care unit study*. *Critical Care Medicine*, 39(4), 665-670. doi: 10.1097/CCM.0b013e318206c1ca
- Kitamura, A., Someya, K., Hata, M., Nakajima, R., & Takemura, M. (2009). Discovery of a Small-Molecule Inhibitor of β -1,6-glucan Synthesis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(2), 670-677. doi:10.1128/AAC.00844-08
- Kontoyiannis, D. P., Marr, K. A., Park, B. J., Alexander, B. D., Anaissie, E. J., Walsh, T. J., ... & Pappas, P. G. (2010). Prospective Surveillance for Invasive Fungal Infections in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients, 2001–2006: Overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database. *Clinical Infectious Diseases*, 50(8), 1091-1100. doi: 10.1086/651263
- Kontoyiannis, D. P., Lewis, R. E., Lotholary, O., Spellberg, B., Petrikos, G., Roilides, E., ... & Walsh, T. J. (2012a). Future Directions in Mucormycosis Research. *Clinical Infectious Diseases*, 54(suppl 1), 79-85. doi: 10.1093/cid/cir886
- Kontoyiannis, D. P. (2012b). Invasive Mycoses: Strategies for Effective Management. *The American Journal of Medicine*, 125(1A), S25-S38. doi: 10.1016/j.amjmed.2011.10.009
- Koo, S., Bryar, J. M., Page, J. H., Baden, L. R., & Marty, F. M. (2009). Diagnostic Performance of the (1 \rightarrow 3)- β -d-Glucan Assay for Invasive Fungal Disease. *Clinical Infectious Diseases*, 49(11), 1650-1659. doi: 10.1086/647942

- Kriengkauykiat, J., Ito, J. I., & Dadwal, S. S. (2011). Epidemiology and treatment approaches in management of invasive fungal infections. *Clinical Epidemiology*, 3, 175-191. doi: 10.2147/CLEP.S12502
- Kullberg, B. J., Verweij, P. E., Akova, M., Arendrup, M. C., Bille, J., Calandra, T., ... & Donnelly, J. P. (2011). European expert opinion on the management of invasive candidiasis in adults. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(s5), 1-12. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03615.x
- Lass-Flörl, C. (2009). The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. *Mycoses*, 52(3), 197-205. doi: 10.1111/j.1439-0507.2009.01691.x
- Leroy, G., Lambiotte, F., Thévenin, D., Lemaire, C., Parmentier, E., Devos, P., & Leroy, O. (2011). Evaluation of " *Candida* score" in critically ill patients: a prospective, multicenter, observational, cohort study. *Annals of Intensive Care*, 1(50), 1-7. doi: 10.1186/2110-5820-1-50
- Lewis, R. E., Cahyame-Zuniga, L., Leventakos, K., Chamilos, G., Ben-Ami, R., Tamboli, P., ... & Kontoyiannis, D. P. (2013). Epidemiology and sites of involvement of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies: a 20-year autopsy study. *Mycoses*, 56(6), 638-645. doi: 10.1111/myc.12081
- Liao, Y., Zhong, M. K., Xu, H. B., & Li, L. (2013). Development and validation of a risk score for predicting invasive fungal infectious in an intensive care unit. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 68(6), 459-464. doi: 10.1691/ph.2013.2891
- Liesenfeld, O., Lehman, L., Hunfeld, K. P., & Kost, G. (2014). Molecular Diagnosis of Sepsis: New aspects and recent developments. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 4(1), 1-25. doi: 10.1556/EuJMI.4.2014.1.1
- Li, S. S., & Mody, C. H. (2010). Cryptococcus. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 7(3), 186-196. doi: 10.1513/pats.200907-063AL
- Liu, M., Capilla, J., Johansen, M. E., Alvarado, D., Martinez, M., Chen, V., ... & Stevens, D. A. (2011). *Saccharomyces* as a vaccine against systemic

- aspergillosis: 'the friend of man' a friend again?. *Journal of Medical Microbiology*, 60(10), 1423-1432. doi: 10.1099/jmm.0.033290-0
- Liu, M., Clemons, K. V., Johansen, M. E., Martinez, M., Chen, V., & Stevens, D. A. (2012). Saccharomyces as a Vaccine Against Systemic Candidiasis. *Immunological Investigations*, 41(8), 847-855. doi:10.3109/08820139.2012.692418
- Luo, G., Ibrahim, A. S., French, S. W., Edwards Jr, J. E., & Fu, Y. (2011). Active and Passive Immunization with rHyr1p-N Protects Mice against Hematogenously Disseminated Candidiasis. *PloS one*, 6(10), e25909. doi: 10.1371/journal.pone.0025909
- MacDougall, L., Fyfe, M., Romney, M., Starr, M., & Galanis, E. (2011). Risk Factors for *Cryptococcus gattii* Infection, British Columbia, Canada. *Emerging Infectious Diseases*, 17(2), 193-199. doi: 10.3201/eid1702.101020
- Martin, G. S., Mannino, D. M., Eaton, S., & Moss, M. (2003). The Epidemiology of Sepsis in the United States from 1979 through 2000. *New England Journal of Medicine*, 348(16), 1546-1554. doi: 10.1056/NEJMoa022139
- Marukutira, T., Huprikar, S., Azie, N., Quan, S. P., Meier-Kriesche, H. U., & Horn, D. L. (2014). Clinical characteristics and outcomes in 303 HIV-infected patients with invasive fungal infections: data from the Prospective Antifungal Therapy Alliance registry, a multicenter, observational study. *HIV/AIDS-Research and Palliative Care*, 6, 39-47. doi: 10.2147/HIV.S53910
- Mayer, F. L., Wilson, D., & Hube, B. (2013). *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*, 4(2), 119-128. doi: 10.4161/viru.22913
- McMullan, B. J., Halliday, C., Sorrell, T. C., Judd, D., Sleiman, S., Marriott, D., ... & Chen, S. C. (2012). Clinical Utility of the Cryptococcal Antigen Lateral Flow Assay in a Diagnostic Mycology Laboratory. *PloS one*, 7(11), e49541. doi: 10.1371/journal.pone.0049541
- Miceli, M. H., & Chandrasekar, P. (2012). Safety and efficacy of liposomal amphotericin B for the empirical therapy of invasive fungal infections in

- immunocompromised patients. *Infection and Drug Resistance*, 5, 9-16. doi: 10.2147/IDR.S22587
- Montagna, M. T., Caggiano, G., Lovero, G., De Giglio, O., Coretti, C., Cuna, T., ... & Puntillo, F. (2013). Epidemiology of invasive fungal infections in the intensive care unit: results of a multicenter Italian survey (AURORA Project). *Infection*, 41(3), 645-653. doi: 10.1007/s15010-013-0432-0
- Montagna, M. T., Lovero, G., Borghi, E., Amato, G., Andreoni, S., Campion, L., ... & Morace, G. (2014). Candidemia in intensive care unit: a nationwide prospective observational survey (GISIA-3 study) and review of the European literature from 2000 through 2013. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 18(5), 661-674.
- Morace, G., & Borghi, E. (2011). Invasive Mold Infections: Virulence and Pathogenesis of *Mucorales*. *International Journal of Microbiology*, 2012, 1-5. doi: 10.1155/2012/349278
- Moreira, M. I. D. M. C. G. (2010). *Azóis: Farmacologia e Interações medicamentosas* (Tese de Mestrado). Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal.
- Moretti, M. L., Resende, M. R., Lazéra, M. S., Colombo, A. L., & Shikanai-Yasuda, M. A. (2008). Consenso em criptococose-2008. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 41(5), 524-544.
- Morrissey, C. O. (2013). Advancing the Field: Evidence for New Management Strategies in Invasive Fungal Infections. *Current Fungal Infection Reports*, 7(1), 51-58. doi: 10.1007/s12281-012-0128-4
- Muskett, H., Shahin, J., Eyres, G., Harvey, S., Rowan, K., & Harrison, D. (2011). Risk factors for invasive fungal disease in critically ill adult patients: a systematic review. *Critical Care*, 15(6), R287. doi: 10.1186/cc10574
- Neoh, C. F., Liew, D., Slavin, M., Marriott, D., Chen, S. C. A., Morrissey, O., ... & Kong, D. C. (2011). Cost-effectiveness analysis of anidulafungin versus fluconazole for the treatment of invasive candidiasis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66, 1906-1915. doi:10.1093/jac/dkr186

- Nguyen, M. H., Wissel, M. C., Shields, R. K., Salomoni, M. A., Hao, B., Press, E. G., ... & Clancy, C. J. (2012). Performance of *Candida* Real-time Polymerase Chain Reaction, β -D-Glucan Assay, and Blood Cultures in the Diagnosis of Invasive Candidiasis. *Clinical infectious diseases*, 54(9), 1240-1248. doi: 10.1093/cid/cis200
- Nyamogoba, H., & Obala, A. A. (2002). Nosocomial infections in developing countries: cost effective control and prevention. *East African Medical Journal*, 79(8), 435-441.
- Oren, I., & Paul, M. (2014). Up to date epidemiology, diagnosis and management of invasive fungal infections. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(s6), 1-4. doi: 10.1111/1469-0691.12642
- Ostrosky-Zeichner, L. (2012). Invasive Mycoses: Diagnostic Challenges. *The American Journal of Medicine*, 125(1), S14-S24. doi: 10.1016/j.amjmed.2011.10.008
- Pagano, L., Caira, M., Nosari, A., Cattaneo, C., Fanci, R., Bonini, A., ... & Rossi, G. (2011). The use and efficacy of empirical versus pre-emptive therapy in the management of fungal infections: the HEMA e-Chart Project. *haematologica*, 96(9), 1366-1370. doi: 10.3324/haematol.2011.042598
- Pappas, P. G., Kauffman, C. A., Andes, D., Benjamin, D. K., Calandra, T. F., Edwards, J. E., ... & Sobe, J. D. (2009). Clinical Practice Guidelines for the Management of Candidiasis: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases*, 48(5), 503-535. doi:10.1086/596757
- Pappas, P. G. (2013). Cryptococcal infections in non-HIV-infected patients. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association*, 124, 61-79.
- Paramythiotou, E., Frantzeskaki, F., Flevari, A., Armaganidis, A., & Dimopoulos, G. (2014). Invasive Fungal Infections in the ICU: How to Approach, How to Treat. *Molecules*, 19(1), 1085-1119. doi:10.3390/molecules19011085

- Park, B. J., Wannemuehler, K. A., Marston, B. J., Govender, N., Pappas, P. G., & Chiller, T. M. (2009). Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. *Aids*, 23(4), 525-530. doi: 10.1097/QAD.0b013e328322ffac
- Pasternak, J. (2012). Novas metodologias de identificação de micro-organismos: MALDI-TOF. *Einstein*, 10(1), 118-119.
- Paswan, A., Raju, D. C., Singh, D. K., Khuba, S., & Dubey, R. K. (2012). Isolation and distribution of *Candida* species among different clinical situations in critically ill patients: prospective study. *International Journal of Biomedical Research*, 3(2), 120-126.
- Peláez, T., Munoz, P., Guinea, J., Valerio, M., Giannella, M., Klaassen, C. H. W., & Bouza, E. (2012). Outbreak of Invasive Aspergillosis After Major Heart Surgery Caused by Spores in the Air of the Intensive Care Unit. *Clinical Infectious Diseases*, 54(3), e24-e31. doi: 10.1093/cid/cir771
- Pelfrey, J., & Bauman, S. (2012) CrAg LFA: The New Gold Standard for Diagnosis and Prevention of Cryptococcal Disease. [Consultado em 2 de Outubro de 2014]; Disponível em: http://www.immy.com/wp-content/uploads/2011/12/CrAgLFA_InternationalWhitePaper_final.pdf
- Pemán, J., Zaragoza, R., & Salavert, M. (2013). Control y prevención de las infecciones nosocomiales y asociadas a cuidados sanitarios causadas por especies de *Candida* y otras levaduras. *Rev Esp Quimioter*, 26(4), 298-311.
- Pemán, J., & Salavert, M. (2013). [Epidemiology and prevention of nosocomial invasive infections by filamentous fungi and yeasts]. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 31(5), 328-341. doi: 10.1016/j.eimc.2013.02.002
- Perfect, J. R., Dismukes, W. E., Dromer, F., Goldman, D. L., Graybill, J. R., Hamill, R. J., ... & Sorrell, T. C. (2010). Clinical Practice Guidelines for the Management of Cryptococcal Disease: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 50(3), 291-322. doi: 10.1086/649858

- Perfect, J. R. (2013). Fungal diagnosis: how do we do it and can we do better?. *Current Medical Research & Opinion*, 29(S4), 3-11. doi:10.1185/03007995.2012.761134
- Petrikkos, G., Skiada, A., Lortholary, O., Roilides, E., Walsh, T. J., & Kontoyiannis, D. P. (2012). Epidemiology and Clinical Manifestations of Mucormycosis. *Clinical Infectious Diseases*, 54(s1), S23-S34. doi: 10.1093/cid/cir866
- Pfaller, M. A., & Diekema, D. J. (2007). Epidemiology of Invasive Candidiasis: a Persistent Public Health Problem. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(1), 133-163. doi: 10.1128/CMR.00029-06
- Pfaller, M. A. (2012). Antifungal Drug Resistance: Mechanisms, Epidemiology, and Consequences for Treatment. *The American Journal of Medicine*, 125(1A), S3-S13. doi:10.1016/j.amjmed.2011.11.001
- Pfaller, M. A., Messer, S. A., Motyl, M. R., Jones, R. N., & Castanheira, M. (2013a). Activity of MK-3118, a new oral glucan synthase inhibitor, tested against *Candida* spp. by two international methods (CLSI and EUCAST). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(4), 858-863. doi:10.1093/jac/dks466
- Pfaller, M. A., Messer, S. A., Motyl, M. R., Jones, R. N., & Castanheira, M. (2013b). *In vitro* activity of a new oral glucan synthase inhibitor (MK-3118) tested against *Aspergillus* spp. by CLSI and EUCAST broth microdilution methods. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(2), 1065-1068. doi: 10.1128/AAC.01588-12
- Pfeiffer, C. D., Fine, J. P., & Safdar, N. (2006). Diagnosis of Invasive Aspergillosis Using a Galactomannan Assay: A Meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases*, 42(10), 1417-1427.
- Pound, M. W., Townsend, M. L., & Drew, R. H. (2010). Echinocandin pharmacodynamics: review and clinical implications. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(6), 1108-1118. doi:10.1093/jac/dkq081
- Posteraro, B., De Pascale, G., Tumbarello, M., Torelli, R., Pennisi, M. A., Bello, G., ... & Antonelli, M. (2011). Early diagnosis of candidemia in intensive care

- unit patients with sepsis: a prospective comparison of (1 \rightarrow 3)-bD-glucan assay, *Candida* score, and colonization index. *Critical Care*, 15(5), R249. doi: 10.1186/cc10507
- Presterl, E., Parschalk, B., Bauer, E., Lassnigg, A., Hajdu, S., & Graninger, W. (2009). Invasive fungal infections and (1, 3)- β -D-glucan serum concentrations in long-term intensive care patients. *International Journal of Infectious Diseases*, 13(6), 707-712. doi: 10.1016/j.ijid.2008.10.013
- Ramana, K. V., Kandi, S., Bharatkumar, V., Sharada, C. V., Rao, R., Mani, R., & Rao, S. D. (2013). Invasive Fungal Infections: A Comprehensive Review. *American Journal of Infectious Diseases and Microbiology*, 1(4), 64-69. doi: 10.12691/ajidm-1-4-2
- Roemer, T., & Krysan, D. J. (2014). Antifungal Drug Development: Challenges, Unmet Clinical Needs, and New Approaches. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 4(5), 1-14. doi:10.1101/cshperspect.a019703
- Ruhnke, M., Rickerts, V., Cornely, O. A., Buchheidt, D., Glöckner, A., Heinz, W., ... & Groll, A. H. (2011). Diagnosis and therapy of *Candida* infections: joint recommendations of the German Speaking Mycological Society and the Paul-Ehrlich-Society for Chemotherapy. *Mycoses*, 54(4), 279-310. doi:10.1111/j.1439-0507.2011.02040.x
- Ruhnke, M., Böhme, A., Buchheidt, D., Cornely, O., Donhuijsen, K., Einsele, H., ... & Schwartz, S. (2012). Diagnosis of invasive fungal infections in hematology and oncology—guidelines from the Infectious Diseases Working Party in Haematology and Oncology of the German Society for Haematology and Oncology (AGIHO). *Annals of Oncology*, 23(4), 823-833. doi: 10.1093/annonc/mdr407
- Ruiz-Camps, I., Aguado, J. M., Almirante, B., Bouza, E., Ferrer, B. C., Len, O., ... & Cuenca-Estrella, M. (2010). [Recommendations of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology (SEIMC) on the prevention of invasive fungal infection due to filamentous fungi]. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28(3), 172.e1-172.e21. doi: 10.1016/j.eimc.2009.11.007

- Sabino, R., Veríssimo, C., Brandão, J., Alves, C., Parada, H., Rosado, L., ... & Pais, C. (2010). Epidemiology of candidemia in oncology patients: a 6-year survey in a Portuguese central hospital. *Medical Mycology*, 48(2), 346-354. doi: 10.3109/13693780903161216
- Safdar, A. (2013). Immunotherapy for Invasive Mold Disease in Severely Immunosuppressed Patients. *Clinical Infectious Diseases*, 57(1), 94-100. doi: 10.1093/cid/cit187
- Schmidt, C. S., White, C. J., Ibrahim, A. S., Filler, S. G., Fu, Y., Yeaman, M. R., ... & Hennessey Jr, J. P. (2012). NDV-3, a recombinant alum-adjuvanted vaccine for *Candida* and *Staphylococcus aureus*, is safe and immunogenic in healthy adults. *Vaccine*, 30(52), 7594-7600. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.10.038
- Shoham, S., & Marwaha, S. (2010). Invasive Fungal Infections in the ICU. *Journal of Intensive Care Medicine*, 25(2), 78-92. doi: 10.1177/0885066609355262
- Sipsas, N. V., & Kontoyiannis, D. P. (2012). Invasive fungal infections in patients with cancer in the Intensive Care Unit. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 39(6), 464-471. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2011.11.017
- Skiada, A., Pagano, L. I. V. I. O., Groll, A., Zimmerli, S., Dupont, B., Lagrou, K., ... & Petrikos, G. (2011). Zygomycosis in Europe: analysis of 230 cases accrued by the registry of the European Confederation of Medical Mycology (ECMM) Working Group on Zygomycosis between 2005 and 2007. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(12), 1859-1867. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03456.x
- Stuehler, C., Khanna, N., Bozza, S., Zelante, T., Moretti, S., Kruhm, M., ... & Topp, M. S. (2011). Cross-protective TH1 immunity against *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans*. *Blood*, 117(22), 5881-5891. doi: 10.1182/blood-2010-12-325084.
- Theel, E. S., & Doern, C. D. (2013). β -d-Glucan Testing Is Important for Diagnosis of Invasive Fungal Infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(11), 3478-3483. doi: 10.1128/JCM.01737-13

- Tortorano, A. M., Dho, G., Prigitano, A., Breda, G., Grancini, A., Emmi, V., ... & Tejada, M. R. (2011). Invasive fungal infections in the intensive care unit: a multicentre, prospective, observational study in Italy (2006–2008). *Mycoses*, 55(1), 73-79. doi: 10.1111/j.1439-0507.2011.02044.x
- Toubas, D. (2013). Epidémiologie des candidoses invasives. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2013(450), 27-36. doi: 10.1016/S1773-035X(13)71944-0
- Tragiannidis, A., Tsoulas, C., Kerl, K., & Groll, A. H. (2013). Invasive candidiasis: update on current pharmacotherapy options and future perspectives. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 14(11), 1515-1528. doi:10.1517/14656566.2013.805204
- Vallejo, C., Vázquez, L., Martín, J. R. C., Carreras, E., García-Rodríguez, J., Ruiz-Camps, I., ... & Barberán, J. (2013). Treatment of invasive fungal infections in high-risk haematological patients: What have we learnt in the past 10 years?. *Revista Espanola de Quimioterapia: Publicacion Oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia*, 26(4), 378-386.
- Van de Veerdonk, F. L., Kullberg, B. J., & Netea, M. G. (2012). Adjunctive immunotherapy with recombinant cytokines for the treatment of disseminated candidiasis. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(2), 112-119. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03676.x
- Viamet (s.d.a). VT-1161. [Acedido em 24 de Setembro de 2014]; Disponível em: <http://viamet.com/products/vt-1161>
- Viamet (s.d.b). VT-1598 e Análogos. [Acedido em 24 de setembro de 2014]; Disponível em <http://viamet.com/products/vt-1598-analogues>
- Vincent, J. L. (2013). Critical care- where have we been and where are we going?. *Critical Care*, 17(Suppl 1), S2. doi: 10.1186/cc11500
- Walker, S. S., Xu, Y., Triantafyllou, I., Waldman, M. F., Mendrick, C., Brown, N., ... & Black, T. A. (2011). Discovery of a novel class of orally active antifungal β -1, 3-d-glucan synthase inhibitors. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(11), 5099-5106. doi:10.1128/AAC.00432-11

- Walsh, T. J. & Rex, J. H. (2002). Infectious disease clinics of North America. New York, EUA
- Walsh, T. J., Anaissie, E. J., Denning, D. W., Herbrecht, R., Kontoyiannis, D. P., Marr, K. A., ... & Patterson, T. F. (2008). Treatment of Aspergillosis: Clinical Practice Guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases*, 46(3), 327-360. doi:10.1086/525258
- White, P. L., Parr, C., Thornton, C., & Barnes, R. A. (2013). Evaluation of Real-Time PCR, Galactomannan Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), and a Novel Lateral-Flow Device for Diagnosis of Invasive Aspergillosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(5), 1510-1516. doi:10.1128/JCM.03189-12
- Wiederhold, N. P., Najvar, L. K., Bocanegra, R., Kirkpatrick, W. R., Patterson, T. F., & Thornton, C. R. (2013). Interlaboratory and Interstudy Reproducibility of a Novel Lateral-Flow Device and Influence of Antifungal Therapy on Detection of Invasive Pulmonary Aspergillosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(2), 459-465. doi: 10.1128/JCM.02142-12
- Xin, H., & Cutler, J. E. (2011). Vaccine and Monoclonal Antibody That Enhance Mouse Resistance to Candidiasis. *Clinical and Vaccine Immunology*, 18(10), 1656-1667. doi: 10.1128/CVI.05215-11.
- Yang, S. P., Chen, Y. Y., Hsu, H. S., Wang, F. D., Chen, L. Y., & Fung, C. P. (2013). A risk factor analysis of healthcare-associated fungal infections in an intensive care unit: a retrospective cohort study. *BMC Infectious Diseases*, 13(1), 1-10. doi: 10.1186/1471-2334-13-10
- Yapar, N. (2014). Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 10, 95-105. doi: 10.2147/TCRM.S40160
- Yeo, S. F., Huie, S., Sofair, A. N., Campbell, S., Durante, A., & Wong, B. (2006). Measurement of Serum D-Arabinitol/Creatinine Ratios for Initial Diagnosis and for Predicting Outcome in an Unselected, Population-Based Sample of

Patients with *Candida* Fungemia. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(11), 3894-3899. doi: 10.1128/JCM.01045-06

Zhao, Y., Meng, Q., Bai, L., & Zhou, H. (2014). *In Silico* Discovery of Aminoacyl-tRNA Synthetase Inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(1), 1358-1373. doi:10.3390/ijms15011358

Zou, M., Tang, L., Zhao, S., Zhao, Z., Chen, L., Chen, P., ... & Fan, X. (2012). Systematic Review and Meta-Analysis of Detecting Galactomannan in Bronchoalveolar Lavage Fluid for Diagnosing Invasive *Aspergillosis*. *PloS one*, 7(8), e43347. doi: 10.1371/journal.pone.00433

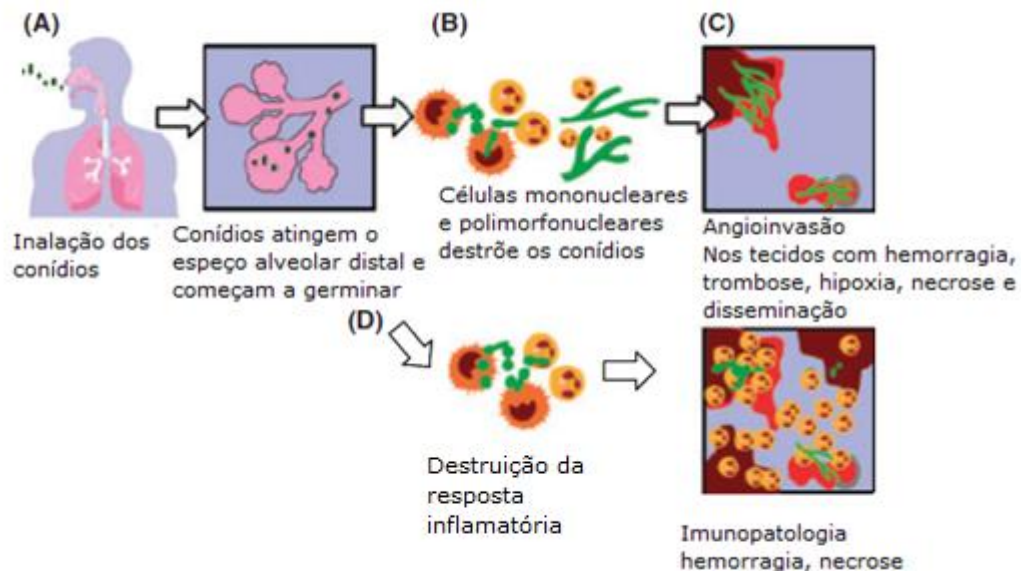
Anexos

Anexo 1: Critérios para doença fúngica invasiva provável/possível (Adaptado de De Pauw et al., 2008)

Fatores do Hospedeiro	<ul style="list-style-type: none">• Neutropenia ($< 0.5 \times 10^9$ neutrófilos/L) por >10 dias• Receção de um transplante alogénico• Uso prolongado de corticosteroides (excepto doentes com ABPA) com dose média mínima 3 mg/kg/dia de prednisona > 3 semanas• Tratamento com outros agentes imunossupressores das células T nos últimos 90 dias• Imunodeficiência herdada grave
Critérios clínicos	<p>Doença fúngica do trato respiratório inferior (presença de um dos seguintes sinais na TC):</p> <ul style="list-style-type: none">• Lesões densas, bem circunscritas com ou sem halo• Sinal de halo em crescente• Cavidade <p>Traqueobronquite:</p> <ul style="list-style-type: none">• Ulceração traqueobrônquica, pseudomembrana nódulos, placa ou crosta visível na broncoscopia <p>Infeção sinonasal (sinusite e um dos seguintes):</p> <ul style="list-style-type: none">• Dor localizada aguda (incluindo dor irradiada para o olho)• Úlcera nasal com crosta preta• Extensão dos seios perinasais através das barreiras ósseas, incluindo a órbita <p>Infeção do SNC (um dos seguintes):</p> <ul style="list-style-type: none">• Lesões focais em exame de imagem• Realce meníngeo em ressonância magnética ou tomografia computadorizada <p>Candidíase disseminada (pelo menos uma das seguintes, após episódio de candidemia nas últimas 2 semanas):</p> <ul style="list-style-type: none">• Pequenos abscessos no fígado ou baço• Exsudado progressivo da retina no exame oftalmológico
Critérios Micológicos	<p>Teste Direto (citologia, microscopia direta, ou cultura)</p> <p>Teste Indireto (deteção de antígenos ou constituintes da parede celular)</p>

Legenda: ABPA- Aspergilose Bronco-Pulmonar Alérgica; TC-Tomografia Computorizada; SNC- Sistema Nervoso Central; FLBA- Fluido de Lavagem Broncoalveolar

Anexo 2: Patogénese da aspergilose invasiva em diferentes contextos imunológicos
(Adaptado de Ben-Ami, Lewis & Kontoyiannis, 2010)



Legenda: (A) – Os conídios são inalados pelos seres humanos e atingem os alvéolos pulmonares devido ao seu pequeno diâmetro (2-3 μm). (B) - Nos alvéolos, os conídios são destruídos pelos macrófagos alveolares e pelos leucócitos polimorfonucleares (PMN). (C) - Em indivíduos com deficiências quantitativas ou qualitativas em PMN, por exemplo expostos a fármacos citotóxicos, a germinação do fungo e a invasão tecidular prossegue ininterruptamente. (D) - Os hospedeiros não neutropénicos com resposta imunitária deficiente, por exemplo os que recebem corticosteroides em doses elevadas, desenvolvem danos nos tecidos devido ao recrutamento de PMN, infiltração do tecido e necrose inflamatória.

Anexo 3: Características do agente antifúngico “ideal” (Kontoyiannis, 2012b)

- Amplo espectro de atividade contra leveduras e fungos
- Sem resistência cruzada com outros antifúngicos
- Rápida atividade fungicida, independentemente da presença de neutrófilos
- Baixa probabilidade de adquirir resistência
- Resultados clínicos tanto em formulação intravenosa como em oral
- Tempo de vida longo (1 toma única diária)
- Largo índice terapêutico que permite o rápido escalonamento da dose
- Boa distribuição nos tecidos típicos da infecção (cérebro, olho, ossos)
- Sem interações fármaco- fármaco (por ex. inibidores da calcineurina)
- Sem toxicidade renal ou hepática
- Sem ação inotrópica negativa, não prolonga intervalo QT
- Nenhum metabolismo através das isoenzimas P- 450
- Farmacocinética linear, sem variabilidade intra ou inter- pacientes, não necessita de monitorização terapêutica
- Absorção da formulação oral independente da comida ou do pH gástrico
- Baixo custo

Anexo 4: Tratamento para candidose invasiva em doentes não neutropênicos de acordo com diferentes diretrizes

Diretrizes	1ª Linha	Alternativa 1	Alternativa 2
ESCMID	Equinocandinas	Voriconazol Anfotericina B lipossômica	Fluconazol Complexo lipídico de anfotericina B
European Expert Opinion	Fluconazol → Com cultura positiva → Sepsis ã complicada Equinocandinas → Sepsis grave	Anfotericina B	
IDSA	Fluconazol → Sepsis ã complicada → Azol naíve Equinocandinas → Sepsis severa → Exposição prévia a azóis	Anfotericina B ou Formulações lipídicas de Anfotericina B (intolerância aos outros ou eficácia limitada)	Voriconazol
Canadian clinical practice guidelines	Fluconazol → Doentes estáveis → Azol naíve → Doentes estáveis ou instáveis com <i>C. parapsilosis</i> Equinocandinas → Doentes estáveis ou não → Exposição prévia a azóis → Ñ utilizar em <i>C. parapsilosis</i>	Anfotericina B ou formulações lipídicas de Anfotericina B	
German Speaking Mycological Society	Fluconazol → Azol naíve → Evitar em <i>C. glabrata</i> e <i>C. krusei</i> Equinocandinas → Doentes graves → Sepsis grave	Anfotericina B lipossômica Voriconazol	
Brazilian guidelines	Equinocandinas	Fluconazol Anfotericina B lipossômica	Complexo lipídico de Anfotericina B